



Н.П. Половко, О.Г. Башура, О.П. Стрілець

Дослідження мікробіологічної чистоти гелю з клотримазолом

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова:
антимікотичний гель, клотримазол,
мікробіологічна чистота.

Ключевые слова:
антимикотический гель,
клотримазол, микробиологическая
чистота.

Key words: *antimicrotics gel,
clotrimazol, microbiological clearness.*

Визначено, що за мікробіологічною чистотою розроблений безводний гель з клотримазолом відповідає вимогам ДФУ. Встановлено, що препарат не потребує додаткового введення консервантів, що зумовлено антимікробною активністю клотримазолу, а також складом основи, яка містить етиловий спирт, пропіленгліколь, ПЕО-400 та забезпечує самоконсервуючий ефект.

Установлено, що по микробиологической чистоте разработанный безводный гель клотримазола соответствует требованиям ГФУ. Определено, что препарат не требует дополнительного введения консервантов, что обусловлено свойствами клотримазола, а также составом основы, которая содержит этиловый спирт, пропиленгликоль, ПЭО-400 и обеспечивает самоконсервирующий эффект.

It is set out that the developed waterless clotrimazolium gel by *microbiological clearness* corresponds to the requirements of SPhU. It was established that preparation does not require additional preservatives, that is conditioned by antimicrobial properties of clotrimazol, as well as by composition of basis which contains ethyl alcohol, propylenglykol, PEO-400 and provides autopreservative effect.

Незважаючи на досить широкий асортимент протигрибкових засобів, пошук нових субстанцій, оптимізація складу існуючих лікарських засобів наперед за рахунок вибору оптимальної основи, розширення спектру фармакологічної дії є актуальною задачею фармації [2-4,6]. Для досліджень з метою впровадження в медичну практику нами обрано клотримазол. Враховуючи гідрофобні властивості даної субстанції, препарати на його основі випускаються у формі мазей, кремів, розчинів [5]. Нами розроблено склад безводного гелю клотримазолу, що містить карбомер 980, етиловий спирт і гідрофільні неводні розчинники: гліцерин, пропіленгліколь, ПЕО-400.

Мета роботи

Визначення мікробіологічної чистоти розробленого гелю та необхідності введення до його складу консервантів.

Матеріали і методи дослідження

При дослідженні використана методика оцінки ефективності антимікробних консервантів, наведена в ДФУ [1]. Метод базується на введенні в дослідні зразки певної кількості тест-мікроорганізмів та визначенні через певні проміжки часу у заражених зразках кількості мікроорганізмів. Як тест-мікроорганізми, згідно вимог ДФУ, нами були використані *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404. Для приготування культур тест-мікроорганізмів робили посіви бактерій на поверхню щільного живильного середовища В, у випадку посіву грибів використовували живильне середовище С без додавання антибіотиків (у відповідності до ДФУ) [1]. Культури бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* інкубували при температурі 30-35°C 18 годин, культуру *Candida albicans* – 20-25°C протягом 48 годин, культуру *Aspergillus niger* – 20-25°C – 7 дб. Для приготування

суспензій бактеріальних культур і культури *Candida albicans* мікробну масу змивали з поверхні живильного середовища стерильним суспендованим розчином, який містить 9 г/л натрію хлориду Р і 1 г/л пептону, переносили в стерильну пробірку і доводили вміст мікроорганізмів до 10⁸ в мл. При приготуванні суспензії культури *Aspergillus niger* використовували стерильний суспендований розчин, який містить 9 г/л натрію хлориду Р і 0,5 г/л полісорбату-80 Р і доводили кількість спор до 10⁸ в мл. З кожної суспензії мікробної культури відбирали пробу і визначали кількість колонійутворюючих одиниць (КУО) в 1 мл суспензії методом прямого висівання на чашки Петрі на щільні живильні середовища, що використовували для попереднього вирощування тест-культур. Кожний зразок з досліджуваною формою інокулювали суспензією, забезпечуючи мікробне навантаження 10⁵ КУО в 1 мл препарату. Для рівномірного розподілення мікроорганізмів у зразку проводили нагрівання до температури 45°C, вносили суспензії мікроорганізмів та ретельно перемішували. Інокульовані зразки витримували при температурі 20-25°C в захищеному від світла місті. З кожного зразка відбирали пробу – 1 мл через певний інтервал часу: 2, 7, 14 та 28 дб. Кількість життєздатних мікроорганізмів визначали методом прямого висіву на чашки Петрі зі щільним живильним середовищем. Результати оцінювали по lg зменшення числа життєздатних мікроорганізмів.

Результати та їх обговорення

Результати досліджень, наведені у таблиці 1, свідчать про те, що в зразках гелю клотримазолу не відбувається збільшення колонійутворюючих одиниць всіх використаних тест-мікроорганізмів через 28 дб після інокуляції, що зумовлено антимікробною активністю клотримазолу, а також складом основи, яка містить гідрофільні неводні розчинники: етиловий спирт, пропіленгліколь, гліцерин, ПЕО-400 та забезпечує самоконсервуючий ефект.

Таблиця 1

Ефективність консервантів у дослідних зразках гелю клотримазолу

Тест-культури	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження			
		2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
Staphylococcus aureus	4,98	2,08	1,6	НВ	НВ
Pseudomonas aeruginosa	4,99	2,03	1,7	НВ	НВ
Candida albicans	5,00	3,12	1,01	НВ	НВ
Aspergillus niger	4,98	2,90	1,14	1,02	НВ

Примітка: НВ – життєздатні клітини тест-мікроорганізмів не виявлені.

При вивченні мікробної контамінації дослідних зразків гелю використовували методику ДФУ, яка дає можливість об'єктивно оцінити якісні характеристики зразків на основі експериментально отриманих, статистично оброблених результатів. Згідно вимог ДФУ норми мікробіологічних показників чистоти гелю (Категорія 2) повинні складати:

- загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів не більше 100 (КУО/г) (аеробних бактерій і грибів сумарно);
- відсутність бактерій сімейства Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa.

Розроблений лікарський засіб виявляє антимікробні властивості, тому для попередження помилок при проведенні оцінки мікробної контамінації необхідно нейтралізувати антимікробну активність гелю. Для цього використовували типову нейтралізуючу рідину, яку додавали до буферного розчину натрію хлориду і пептону рН 7,0 після його стерилізації. Дослідження мікробної чистоти проводили методом прямого посіву. Для проведення аналізу відбирали 10г дослідного зразку гелю, з якого готували гомогенний розчин при розведенні 1:10. До 10,0 г препарату додавали буферний розчин рН 7,0 з нейтралізатором до кінцевого об'єму 100мл. Експериментально було встановлено, що ця лікарська форма у розведенні 1:10 у присутності нейтралізатора не виявляє антимікробної дії.

Як живильні використовували середовища, які реко-

мендовано ДФУ: середовище В (соєво-козеїновий агар) – для культивування бактерій; середовище С (агар Сабура) – для вирощування грибів; середовище 3 – середовище збагачення для ентеробактерій; агар Ендо (середовище №4) і вісмут-сульфітний агар (середовище 5) – для диференціації представників роду ентеробактерій; середовище з феноловим червоним (середовище 6) – для визначення ферментації глюкози; середовище 8 – середовище збагачення для S.aureus та P.aeruginosa; солевий агар з манітом (середовище 10) – для ідентифікації S.aureus. При дослідженні використовували: зразок 1 – свіжоприготований; зразок 2 – термін зберігання 6 місяців; 3–12; 4–24; 5–27 місяців.

Результати проведених досліджень, представлені в таблиці 2, свідчать про відсутність дослідних мікроорганізмів у процесі зберігання зразків.

Таким чином, експериментально встановлено, що у всіх дослідних зразках гелю при різних термінах зберігання не виявлена наявність бактерій сімейства Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa. Визначено, що загальна кількість бактерій та грибів в 1г дослідного гелю не перевищує 10 колонійутворюючих одиниць (КУО) при різних термінах зберігання, а зразок, що зберігався 27 місяців містить 10 (КУО) грибів.

Експериментально визначено, що за мікробіологічною чистотою розроблений препарат відповідає вимогам ДФУ.

Таблиця 2

Результати дослідження мікробної контамінації дослідних зразків гелю

Зразок препарату	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату (розведення 1:10)		Мікроорганізми		
	бактерій	грибів	сімейство Enterobacteriaceae	S.aureus.	P.aeruginosa
Зразок 1	< 10	< 10	ВР	ВР	ВР
Зразок 2	< 10	< 10	ВР	ВР	ВР
Зразок 3	< 10	< 10	ВР	ВР	ВР
Зразок 4	< 10	< 10	ВР	ВР	ВР
Зразок 5	< 10	10	ВР	ВР	ВР

Примітка: ВР – відсутність росту.

Висновки

Досліджено мікробіологічну чистоту розробленого лікарського засобу. Визначено, що препарат відповідає вимогам ДФУ для препаратів місцевого застосування.

Встановлено, що розроблений препарат не потребує додаткового введення консервантів, це зумовлено антимікробною активністю клотримазолу, а також складом основи, яка містить етиловий спирт, пропіленгліколь, ПЕО-400 та забезпечує самоконсервуючий ефект.

Література

1. Державна Фармакопея України / Держ. підп-во «Науково-експертний центр». – 1 вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
2. Родионов А.Н. Грибковые заболевания кожи: руков. для врачей / А.Н. Родионов. — 2-е изд. – СПб: Питер, 2000. – 288 с.
3. Сергеев А. Ю. Грибковые инфекции / А. Ю.Сергеев, Ю.В. Сергеев — М., 2003. — С. 186 — 189.
4. Короткий Н. Г. Современная наружная терапия дерматозов / Н. Г. Короткий — Тверь, 2001. — 186 с.
5. Компендиум 2008 - Лекарственные препараты справ. / под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: Марион, 2008. — 2120 с.
6. Dorko E. Epidemiology and prevalence of dermatomycosis / E. Dorko, J.B. Jautova, H.C Zeienkova // Ann. Derm. Venerol. — 2002. — Vol.129, №3 — P. 661.

Відомості про авторів:

Башура О.Г., д.фарм.н., проф., завідувач кафедри косметології та аромології.

Половко Н.П., к. фарм.н., доцент кафедри косметології і аромології.

Стрілець О.П., к.фарм.н., доцент кафедри біотехнології.

Адреса для листування:

Половко Наталя Петрівна, 61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4, НФаУ, кафедра косметології і аромології.

Тел. (0572) 67-87-75; e-mail: cosmetology@ukrfa.ua
