

ВИПРОБУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО КРЕМУ ПРОТИГРИБКОВОЇ ДІЇ ЗА ПОКАЗНИКОМ «МІКРОБІОЛОГІЧНА ЧИСТОТА»

Ключові слова: мікробіологічна чистота, протигрибковий крем, зберігання, стабільність

Згідно з вимогами GMP, контролем якості лікарських засобів (ЛЗ) обґрунтовується їх безпека і ефективність від розроблення, виробництва до споживача. Одним з важливих параметрів під час розроблення нового ЛЗ є його мікробіологічна чистота [1, 2].

Мікробіологічна чистота – один з основних параметрів стандартів GMP і GLP, тому забезпечення цього показника відповідним регламентуючим документам є одним із завдань фармацевтичної розробки [3].

Враховуючи тісний зв'язок мікробіологічних показників із безпекою застосування ЛЗ, результати випробувань продукції мають бути максимально точними і надійними. Основними факторами, що впливають на варіабельність результатів мікробіологічних досліджень, є специфічність проби, компетентність персоналу та умови його роботи, відбір зразків та підготовка проби, умови інкубації, характеристики живильних середовищ, які використовують [4].

Тому розроблення та валідація методики визначення показника «мікробіологічна чистота» як складової стабільності розробленого ЛЗ є обов'язковими.

У зв'язку з цим, метою роботи була оцінка мікробіологічної чистоти опрацьованого нестерильного м'якого ЛЗ комбінованою дії для лікування дерматомікозів.

Матеріали та методи дослідження

Об'єктами були зразки опрацьованого м'якого ЛЗ, що містять клотримазол, метронідазол, бетаметазону дипропіонат та сечовину.

Визначення показника «мікробіологічна чистота» здійснювали як безпосередньо після виготовлення ЛЗ, так і у процесі його зберігання в природних умовах (на момент дослідження зразки витримано 12 місяців) за трьох температурних режимів: 15–25 °С, 2–8 °С, 8–15 °С у різних типах упаковки – тубах та пластмасових контейнерах.

Вивчення мікробіологічної чистоти виконували згідно з вимогами Державної фармакопеї України (ДФУ). Принципом перевірки придатності методики є кількісне та якісне порівняння інтенсивності росту визначених ДФУ 1.4 (2.6.12, 2.6.13) тест-мікроорганізмів в присутності і у відсутності випробовуваного зразка [5, 6].

Під час випробувань використовували живильні середовища: соєво-казеїновий бульйон (для підготовки тест-штамів бактерій цільового використання у разі випробування на наявність мікроорганізмів *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), соєво-казеїновий агар (СКА, для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС)), Сабуро-декстрозний агар (СДА, для

підготовки тест-штамів грибів цільового використання та визначення загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС)), манітно-сольовий агар (для ідентифікації *Staphylococcus aureus*), цетримідний агар (для ідентифікації *Pseudomonas aeruginosa*). Живильні середовища відповідали вимогам за ростовими, інгібіторними, індикативними властивостями та витримували випробування на стерильність відповідно до вимог ДФУ 1.4.

Під час виконання випробувань використовували тест-мікроорганізми відповідно до вимог ДФУ 1.4: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Культури тест-мікроорганізмів готували відповідно до вимог ДФУ. Тест-мікроорганізми вирощували кожний окремо на відповідному живильному середовищі: тест-штами бактерій – на соєво-казеїновому бульйоні за температури 30–35 °С від 18 до 24 год; тест-штами грибів – на поверхні Сабуро-декстрозного агару за температури 20 °С (тест-мікроорганізм *C. albicans* вирощували упродовж 48 год, а тест-мікроорганізм *A. brasiliensis* – протягом 5–7 діб).

Перевірку придатності методики визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів здійснювали відповідно до вимог ДФУ. Робочі суспензії тест-мікроорганізмів готували методом послідовних кратних розведень у буферному розчині з натрію хлоридом і пептоном (рН 7,0).

Для перевірки придатності методики визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) готували суспензії монокультур *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *A. brasiliensis* з концентрацією 10^4 КУО/мл.

Для перевірки придатності методики визначення загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) готували суспензії монокультур *C. albicans*, *A. brasiliensis*. Кількісне визначення КУО тест-мікроорганізмів в суспензіях виконували методом висівання (0,01 мл з 10^4 КУО/мл) у чашки Петрі з соєво-казеїновим агаром для ТАМС та з Сабуро-декстрозним агаром для ТУМС.

Для верифікації умов випробування робили негативний контрольний дослід, використовуючи для висівання у живильні середовища стерильний розчинник.

Використовували не менше двох чашок Петрі для кожного тест-мікроорганізму, посіви інкубували відповідно до вимог ДФУ, підраховували число колоній у кожній чашці Петрі, визначали середнє арифметичне значення числа колоній.

Для перевірки придатності методики визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів готували пробу випробовуваного зразка крему за нижченаведеною методикою.

Зразок 1. У стерильну мірну ємність вміщували 10 г середньої проби ЛЗ, додавали 2 г стерильного полісорбата-80, емульгували. Додавали близько 60 мл буферного розчину з натрію хлоридом і пептоном, рН 7,0, підігрітого до 40 °С, перемішували до утворення гомогенної суспензії та доводили об'єм до 100 мл тим самим розчинником (розведення 1:10).

Зразок 2. У стерильну мірну ємність вміщували 20 мл зразка 1, доводили об'єм до 100 мл стерильним буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном, рН 7,0, підігрітим до 40 °С, перемішували (розведення 1:50).

Для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) у стерильні чашки Петрі вносили по 1 мл підготовленого зразка 1 та 2, додавали по 0,01 мл суспензії визначеного тест-мікроорганізму з концентрацією 10^4 КУО/мл. У кожену чашку Петрі вносили 15–20 мл стерильного соєво-казеїнового агару

температурою не вище 45 °С. Після застигання агару чашки інкубували за температури 30–35 °С упродовж 3 діб.

Для визначення загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) у стерильні чашки Петрі вносили по 1 мл підготовленого зразка 1, додавали по 0,01 мл суспензії визначеного тест-мікроорганізму з концентрацією 10⁴ КУО/мл. У кожну чашку Петрі вносили від 15 мл до 20 мл стерильного Сабуро-декстрозного агару температурою не вище 45 °С. Після застигання агару чашки інкубували за температури 20–25 °С упродовж 5 діб.

Для перевірки придатності методики випробування на наявність *S. aureus* робочу суспензію тест-мікроорганізму *S. aureus* готували методом послідовних кратних розведень у буферному розчині з натрію хлоридом і пептоном, рН 7,0, до концентрації 10³ КУО/мл. Кількісне визначення КУО тест-мікроорганізму в робочій суспензії здійснювали методом висівання по 0,1 мл у кожну з двох чашок Петрі з живильним середовищем – соєво-казеїновим агаром. Інкубували посіви відповідно до вимог ДФУ 1.4 (2.6.12) та підраховували число колоній у чашках Петрі, визначали середнє арифметичне значення числа колоній.

Приготування проби випробовуваного зразка препарату для перевірки придатності методики випробування на наявність *S. aureus*: 10 г середньої проби ЛЗ вміщували у стерильну мірну ємність, додавали 2 г стерильного полісорбата-80, емульгували. Додавали близько 60 мл буферного розчину з натрію хлоридом і пептоном, рН 7,0, підігрітого до 40 °С, перемішували до утворення гомогенної суспензії та доводили об'єм до 100 мл тим самим розчинником (розведення 1:10). Потім на *I etami* 10 мл проби зразка вносили у 100 мл соєво-казеїнового бульйону, додавали 0,1 мл (не більше 100 КУО) робочої суспензії тест-мікроорганізму *S. aureus*. В позитивному контрольному досліді в такий самий об'єм живильного середовища додавали 10 мл стерильного розчинника та 0,1 мл (не більше 100 КУО) робочої суспензії тест-мікроорганізму *S. aureus*. В негативному контрольному досліді у такий самий об'єм живильного середовища додавали 10 мл стерильного розчинника. Інкубували посіви за температури 30–35 °С від 18 до 24 год. На *II etami* після закінчення терміну інкубації посіви струшували і виконували пересівання на поверхню манітно-сольового агару. Посіви інкубували за температури 30–35 °С від 18 до 72 год.

Для перевірки придатності методики випробування на наявність *P. aeruginosa* робочу суспензію тест-мікроорганізму *P. aeruginosa* та пробу випробовуваного зразка препарату готували аналогічно до методики випробування на наявність *S. aureus*.

Результати дослідження та обговорення

Відповідно до вимог загальних статей ДФУ 1.4 (2.6.12, 2.6.13) метою перевірки придатності методики випробування мікробіологічної чистоти готових нестерильних ЛЗ для зовнішнього застосування є експериментальне підтвердження того, що методика відповідає критеріям прийнятності (ДФУ 1.4, 5.1.4): загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – не більше 10² КУО/г; загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – не більше 10 КУО/г; відсутність *S. aureus* в 1 г та відсутність *P. aeruginosa* в 1 г.

Результати перевірки придатності методики визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів в розведенні випробовуваного зразка 1:10 та 1:50 наведено в табл. 1.

Перевірка придатності методики визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів

Схема випробування	№ серії	Число КУО в 1 мл зразка						
		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	
		СКА	СКА	СКА	СКА	СДА	СКА	СДА
Розведення 1:10								
Зразок препарату + м/о	серія 1	5/3	0/0	0/0	58/54	64/63	0/0	0/0
	серія 2	0/1	0/0	0/0	54/57	57/49	0/0	0/0
	серія 3	2/3	0/0	0/0	52/59	72/76	0/0	0/0
Контроль позитивний (м/о)	серія 1	65/68	55/54	36/39	55/52	63/65	0/0	0/0
	серія 2	56/57	63/68	63/68	55/59	58/53	0/0	0/0
	серія 3	95/94	85/84	45/47	57/58	72/76	0/0	0/0
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній (серія 1, серія 2, серія 3)							
Розведення 1:50								
Зразок препарату + м/о	серія 1	60/66	40/36	32/36	50/54	–	0/0	–
	серія 2	49/47	55/56	62/66	53/61	–	0/0	–
	серія 3	86/82	80/79	49/51	52/56	–	0/0	–
Контроль позитивний (м/о)	серія 1	65/68	55/54	36/39	55/52	–	0/0	–
	серія 2	56/57	63/68	63/68	55/59	–	0/0	–
	серія 3	95/94	85/84	45/47	57/58	–	0/0	–
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній (серія 1, серія 2, серія 3)							

П р и м і т к а, тут і в табл. 2, 3: м/о – мікроорганізми; «–» – випробування не виконували.

Дані табл. 1 свідчать, що випробовуваний зразок у розведенні 1:10 виявляє антимікробну дію стосовно *S. aureus*, *P. aeruginosa* та пригнічує ріст *B. subtilis*, яка усувається у разі розведення випробовуваного зразка 1:50. А стосовно *A. brasiliensis* препарат виявляє антимікробну дію в розведенні 1:10 та 1:50.

З метою усунення антимікробної дії препарату було використано інактиватори у складі нейтралізуючої рідини, а саме – 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду.

Оцінку впливу нейтралізуючої рідини на антимікробну дію випробовуваного препарату в розведенні 1:10 та 1:50 подано в табл. 2.

Оцінка впливу нейтралізуючої рідини на антимікробну дію зразка

Схема випробування	№ серії	Число КУО в 1 мл зразка						
		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	
		СКА	СКА	СКА	СКА	СДА	СКА	СДА
Розведення 1:10								
Зразок препарату + м/о	серія 1	93/97	60/58	46/47	81/76	83/81	0/0	0/0
	серія 2	59/67	90/87	49/53	87/83	82/78	0/0	0/0
	серія 3	65/72	50/54	79/85	44/38	41/33	0/0	0/0
Контроль позитивний (м/о)	серія 1	92/94	66/68	51/53	83/84	85/81	0/0	0/0
	серія 2	63/66	89/91	55/58	85/89	81/80	0/0	0/0
	серія 3	68/71	58/56	83/82	35/41	40/38	0/0	0/0
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній (серія 1, серія 2, серія 3)							
Розведення 1:50								
Зразок препарату + м/о	серія 1	90/97	58/59	52/48	82/84	–	0/0	–
	серія 2	60/57	82/85	66/62	86/87	–	0/0	–
	серія 3	63/67	55/57	85/84	34/39	–	0/0	–
Контроль позитивний (м/о)	серія 1	92/94	66/68	51/53	83/84	–	0/0	–
	серія 2	63/66	89/91	55/58	85/89	–	0/0	–
	серія 3	68/71	58/56	83/82	35/41	–	0/0	–
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній (серія 1, серія 2, серія 3)							

Дані табл. 2 свідчать, що антимікробна активність стосовно *A. brasiliensis* у разі використання інактиваторів у складі нейтралізуючої рідини не усунена в розведенні препарату 1:10 та 1:50 під час визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів.

У зв'язку із зазначеним, з метою усунення антимікробної дії препарату було додатково використано інактиватори в густих живильних середовищах – соєво-казеїновому та Сабуро-декстрозному агарях, а саме – 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду. Як розчинник використовували таку саму нейтралізуючу рідину (3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду).

**Оцінка впливу додавання інактиваторів у густі живильні сердовища на
антимікробну дію випробовуваного зразка**

Схема випробування	№ серії	Число КУО в 1 мл зразка						
		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	
		СКА	СКА	СКА	СКА	СДА	СКА	СДА
Розведення 1:10								
Зразок препарату + м/о	серія 1	63/59	71/68	69/68	56/61	62/63	11/14	58/55
	серія 2	58/62	52/52	43/45	32/36	42/40	25/22	44/43
	серія 3	59/60	70/68	50/51	46/45	51/46	18/25	49/54
Контроль позитивний (м/о)	серія 1	56/57	63/68	63/68	55/59	59/64	58/53	52/55
	серія 2	68/69	50/51	47/52	38/34	39/37	44/45	42/46
	серія 3	56/57	65/69	55/46	52/46	49/48	56/52	53/55
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній (серія 1, серія 2, серія 3)							
Розведення 1:50								
Зразок препарату + м/о	серія 1	52/56	60/63	60/61	50/54	–	49/48	–
	серія 2	62/64	49/47	42/44	32/38	–	39/46	–
	серія 3	55/52	60/67	50/54	54/53	–	50/48	–
Контроль позитивний (м/о)	серія 1	56/57	63/68	63/68	55/59	–	55/53	–
	серія 2	68/69	50/51	47/52	38/34	–	44/45	–
	серія 3	56/57	65/69	55/46	52/46	–	56/52	–
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній (серія 1, серія 2, серія 3)							

Дані табл. 3 свідчать про придатність методики для визначення зального числа дріжджових та плісневих грибів у розведенні препарату 1:10 та загального числа аеробних мікроорганізмів у розведенні препарату 1:50 з використанням інактиваторів у складі нейтралізуючої рідини (3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєового лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду) і у складі соєво-казеїнового агару та Сабуро-декстрозного агару (3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєового лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду).

Під час перевірки придатності методики випробування на наявність *S. aureus* по закінченні періоду інкубації здійснювали біохімічні тести та мікроскопію мікроорганізмів, що виростили у присутності і у відсутності випробовуваного зразка.

**Результати перевірки придатності методики випробування на наявність
*Staphylococcus aureus***

Тест-штам мікроорганізму	№ серії	Наявність росту на середовищах						Середнє число КУО/0,1 мл суспензії
		у присутності препарату		позитивний контрольний дослід		негативний контрольний дослід (без м/о)		
		на рідких	на густих	на рідких	на густих	на рідких	на густих	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	серія 1	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	72/79
	серія 2	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	
	серія 3	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	

Примітка, тут і в табл. 5, 6, 7: «+» – наявність росту; «-» – відсутність росту.

Дані табл. 4 свідчать, що випробовуваний зразок в умовах випробування виявляє антимікробну дію стосовно *S. aureus*.

З метою усунення антимікробної дії препарату було використано інактиватори в складі нейтралізуючої рідини, а саме – 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду.

**Оцінка впливу нейтралізуючої рідини на антимікробну дію
випробовуваного зразка**

Тест-штам мікроорганізму	№ серії	Наявність росту на середовищах						Середнє число КУО/0,1 мл суспензії
		в присутності препарату		позитивний контрольний дослід		негативний контрольний дослід (без м/о)		
		на рідких	на густих	на рідких	на густих	на рідких	на густих	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	серія 1	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	65/64
	серія 2	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	
	серія 3	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	

Дані табл. 5 свідчать, що антимікробна дія усувається у разі використання інактиваторів у складі нейтралізуючої рідини, та інтенсивність росту мікроорганізмів не відрізняється, що підтверджує придатність методики. Отже, цю методику можна використовувати у разі визначення наявності *S. aureus*.

У разі перевірки придатності методики випробування на наявність *P. aeruginosa* після закінчення періоду інкубації виконували біохімічні тести та мікроскопію мікроорганізмів, що виростили у присутності і у відсутності випробовуваного зразка.

Результати перевірки придатності методики випробування на наявність *P. aeruginosa* наведено в табл. 6.

**Результати перевірки придатності методики випробування на наявність
*Pseudomonas aeruginosa***

Тест-штам мікроорганізму	№ серії	Наявність росту на середовищах						Середнє число КУО/0,1 мл суспензії
		в присутності препарату		позитивний контрольний дослід		негативний контрольний дослід (без м/о)		
		на рідких	на густих	на рідких	на густих	на рідких	на густих	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	серія 1	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	35/39
	серія 2	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	
	серія 3	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	

Дані табл. 6 свідчать, що випробовуваний зразок в умовах випробування виявляє антимікробну дію стосовно зазначеного тест-мікроорганізму.

З метою усунення антимікробної дії препарату було використано інактиватори в складі нейтралізуючої рідини, а саме – 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду.

**Оцінка впливу нейтралізуючої рідини на антимікробну дію
випробовуваного зразка**

Тест-штам мікроорганізму	№ серії	Наявність росту на середовищах						Середнє число КУО/0,1 мл суспензії
		в присутності препарату		позитивний контрольний дослід		негативний контрольний дослід (без м/о)		
		на рідких	на густих	на рідких	на густих	на рідких	на густих	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027	серія 1	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	42/40
	серія 2	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	
	серія 3	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	

Дані табл. 7 свідчать, що антимікробна дія усувається у разі використання інактиваторів у складі нейтралізуючої рідини, та інтенсивність росту мікроорганізмів не відрізняється, що підтверджує придатність методики. Отже, цю методику можна використовувати у разі визначення наявності *P. aeruginosa*.

Наступним етапом досліджень було виконання випробування опрацьованого МЛЗ згідно з розробленою методикою за показником «мікробіологічна чистота», вивчали зразки, які було витримано в різних умовах зберігання та в різній первинній упаковці.

Для випробувань готували такі зразки препарату.

Зразок 1. У стерильну мірну ємність вмішували 10 г середньої проби опрацьованого ЛЗ під умовною назвою Бекарбокломет, додавали 2 г стерильного полісорбата-80, емульгували. Додавали близько 60 мл буферного розчину з натрію хлоридом і пептоном, рН 7,0, що містить 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду, підігрітого до 40 °С, перемішували до утворення гомогенної суспензії та доводили об'єм до 100 мл тим самим розчинником (розведення 1:10).

Зразок 2. У стерильну мірну ємність вміщували 20 мл зразка 1, доводили об'єм до 100 мл стерильним буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном (рН 7,0), що містив 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду, підігрітим до 40 °С, перемішували (розведення 1:50).

Для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) брали по 1 мл зразка 2, висівали глибинним методом у кожну з двох чашок Петрі та вносили від 15 мл до 20 мл стерильного соєво-казеїнового агару, що містив 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду, температурою не вище 45 °С, давали агару застигнути. Чашки інкубували за температури 30–35 °С протягом 5 діб.

Для визначення загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) брали по 1 мл зразка 1, висівали глибинним методом у кожну з двох чашок Петрі та вносили 15–20 мл стерильного Сабуро-декстрозного агару, що містив 3%-й розчин полісорбата-80, 0,3%-й розчин соєвого лецитину, 0,1%-й розчин гістидину гідрохлориду, температурою не вище 45 °С, давали агару застигнути. Чашки інкубували за температури 20–25 °С протягом 7 діб.

У разі випробування на наявність *S. aureus* та *P. aeruginosa* брали 10 мл зразка 1, вносили в 100 мл соєво-казеїнового бульйону. Зразки перемішували та інкубували за температури 30–35 °С від 18 до 24 год. У разі випробування на наявність *S. aureus* контейнер струшували та виконували пересівання на поверхню манітно-сольового агару. У разі випробування на наявність *P. aeruginosa* контейнер струшували та здійснювали пересівання на поверхню цетримідного агару. Зразки інкубували за температури 30–35 °С від 18 до 72 год.

Результати дослідження зразків опрацьованого ЛЗ за показником «мікробіологічна чистота» подано в табл. 8.

Т а б л и ц я 8

Результати дослідження препарату за показником «мікробіологічна чистота»

Умови зберігання / Упаковка	ЛЗ Бетакарбокломет				
	№ зразка	Загальне число		Відсутність в 1 г	
		аеробних мікроорганізмів (ТАМС) у 1 г	дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) у 1 г	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
Безпосередньо після виготовлення					
	1	< 50 КУО/г	< 10 КУО/г	Відсутні	Відсутні
Зберігання за температури 2–8 °С					
Туби	2 а	< 50 КУО/г	< 10 КУО/г	Відсутні	Відсутні
Пластмасові контейнери	2 б	< 50 КУО/г	< 10 КУО/г	Відсутні	Відсутні
Зберігання за температури 8–15 °С					
Туби	3 а	< 50 КУО/г	< 10 КУО/г	Відсутні	Відсутні
Пластмасові контейнери	3 б	< 50 КУО/г	< 10 КУО/г	Відсутні	Відсутні
Зберігання за температури 15–25 °С					
Туби	4 а	< 50 КУО/г	< 10 КУО/г	Відсутні	Відсутні
Пластмасові контейнери	4 б	< 50 КУО/г	< 10 КУО/г	Відсутні	Відсутні

Дані табл. 8 свідчать, що для кожного зразка загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не більше 10^2 КУО/г, загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) не більше 10 КУО/г, не виявлено *P. aeruginosa* та *S. aureus* в 1 г, що відповідає вимогам ДФУ.

Висновки

1. Розроблено методику випробування (метод глибинного висівання) показника «мікробіологічна чистота» для опрацьованого лікарського засобу у вигляді крему з клотримазолом, метронідазолом, бетаметазоном дипропіонатом та сечовиною.

2. Результати дослідження зразків опрацьованого лікарського засобу, які зберігали за температури 2–25 °С упродовж 18 міс, за показником «мікробіологічна чистота» свідчать, що для кожного зразка загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не перебільшує 10^2 КУО/г, загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) не перебільшує 10 КУО/г, не виявлено *P. aeruginosa* та *S. aureus* в 1 г, що відповідає вимогам ДФУ.

Перспективою дослідження є продовження вивчення опрацьованого ЛЗ за показником «мікробіологічна чистота» впродовж усього передбачуваного терміну зберігання.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гунар О. В. Риск получения ложных микробиологических результатов при контроле качества лекарственных средств // Фармация. – 2005. – № 2. – С. 29–31.

2. Ивахненко Е. Л., Стрилець О. П., Стрельников Л. С., Кустова С. П. Оценка микробиологической чистоты мягкой лекарственной формы с катиозином // Курский научно-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2013. – № 2. – С. 102–105.

3. Громова Е. С., Ивлева И. Н. Проба микробиологической чистоты при производстве мягких лекарственных форм // Успехи совр. естествознания. – 2010. – № 7 – С. 10–11.

4. Микробиология. Фармацевтический дайджест, 2011 (июль) [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://newsapteka95.wordpress.com>

5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». Перше вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

6. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». Перше вид., доп. 1. – Харків: РІРЕГ, 2004. – 520 с.

Надійшла до редакції 28. 11. 2014.

С. В. Бирюкова¹, Арам Дуллах², И. А. Власенко², Л. Л. Давтян² Ю. В. Войда¹

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования

²Национальная медицинская академия последипломного образования
имени П. Л. Шупика, г. Киев

ИССЛЕДОВАНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО КРЕМА ПРОТИВОГРИБКОВОГО ДЕЙСТВИЯ ПО ПОКАЗАТЕЛЮ «МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ЧИСТОТА»

Ключевые слова: микробиологическая чистота, противогрибковый крем, хранение, стабильность

АННОТАЦИЯ

Согласно требованиям GMP, контролем качества лекарственных средств обосновывается их безопасность и эффективность от разработки, производства до потребителя. Одним из важных параметров при фармацевтической разработке нового лекарственного средства является его микробиологическая чистота. Поэтому разработка и валидация методики определения показателя «микробиологическая чистота» как составной стабильности разработанного препарата являются обязательным.

Целью работы была оценка микробиологической чистоты разработанного мягкого лекарственного средства комбинированного действия для лечения дерматомикозов в различных условиях хранения и упаковке.

Объектами были образцы разработанного крема, содержащего клотримазол, метронидазол, бетаметазона дипропионат и мочевины. Изучение микробиологической чистоты проводили согласно требованиям Государственной фармакопеи Украины.

В результате экспериментальных исследований разработана методика испытания показателя «микробиологическая чистота» для созданного лекарственного средства.

Испытания разработанного крема по показателю «микробиологическая чистота» методом глубинного высевания свидетельствуют, что для всех образцов общее число аэробных микроорганизмов (ТАМС) не превышает 10² КУО/г, общее число дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС) не превышает 10 КУО/г, не выявлены *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г. В течение срока хранения при температуре 2–25 °С крем отвечает требованиям Государственной фармакопеи Украины.

С. В. Birukova¹, Aram Dullah², I. A. Vlasenko², L. L. Davtyan², Y. V. Voyda¹

¹Kharkiv Medical Academi of Post-graduate Education

²Shupyk National Medical Academy of Post-graduate Education, Kyiv

ANALYSIS OF COMBINED CREAM WITH ANTIFUNGAL ACTIVITY IN TERMS OF «MICROBIOLOGICAL PURITY»

Key words: microbiological purity, antifungal cream, storage, stability

ABSTRACT

According to GMP requirements, quality control of medicinal products justifies their safety and effectiveness from the development and production to the consumer. One of the important parameters in the development of a new pharmaceutical drug is its microbiological purity. Therefore, the development and validation of methods of determining the indicator «microbiological purity» as a component of stability of developed drug is obligatory.

The aim of the study was to evaluate the microbiological purity of the developed combination soft drug for the treatment of dermatomycosis in different conditions of storage and packaging.

The objects of the analysis were samples of the developed cream containing clotrimazole, metronidazole, betamethasone dipropionate and urea. The study of the microbiological purity was conducted according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

The analysis of the developed cream in terms of «microbiological purity» using deep-sowing method has showed the total aerobic microbial count (ТАМС) for each sample: not more than 10² CFU/g; the total combined yeasts/moulds count (ТУМС): not more than 10 CFU/g; *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in 1g have not been found. During the shelf time at 2–25 °С condition cream meets the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Електронна адреса для листування з авторами: vlasenko_iryana@mail.ru