УДК 615.454.2:543:866:617.34 DOI:10.32352/0367-3057.5-6.18.6
Л. Л. ДАВТЯН [1] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X), д-р фарм. наук, проф.,
О. П. ШМАТЕНКО [2] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X), д-р фарм. наук, проф.,
В. О. ТАРАСЕНКО [2] (https://orcid.org/0000-0002-3614-6752), канд. фарм. наук, доцент,
О. М. ВЛАСЕНКО [2] (https://orcid.org/0000-0001-8362-2021), д-р мед. наук, проф.,
Г. В. ОСЬОДЛО [2] (https://orcid.org/0000-0001-7563-8090), д-р мед. наук, проф.,
Н. М. ОРЛОВА [1] (https://orcid.org/0000-0003-1444-7287), д-р мед. наук, проф.
[1] Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ
[2] Українська військово-медична академія, м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ КРЕМУ З МІРАМІСТИНОМ, АНЕСТЕЗИНОМ І CO_2 ЕКСТРАКТОМ РОМАШКИ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ У ХІРУРГІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

Ключові слова: мікробіологічна чистота, поживне середовище, тест-штам, лікарський засіб, крем, мірамістин, анестезин, CO_2 екстракт ромашки

L. L. DAVTIAN[1] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
O. P. SHMATENKO[2] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
V . A. TARASENKO[2] (https://orcid.org/0000-0002-3614-6752),
O. M. VLASENKO[2] (https://orcid.org/0000-0001-8362-2021),
G. V. OSEDLO[2] (https://orcid.org/0000-0001-7563-8090),
N. M. ORLOVA[1] (https://orcid.org/0000-0003-1444-7287)
[1] Shupyk National Medical Academy of Post-Graduate Education, Kyiv
[2] Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv

STUDY OF MICROBIOLOGICAL PURITY WITH MYRAMISTIN, ANESTHEZINE AND CO_2 CHAMOMILE EXTRACT FOR USE IN SURGICAL PRACTICE

Key words: microbiological purity; nutrient medium; test strain; drug; cream; miramistin; anesthesin; CO_2 chamomile extract

Процес виробництва лікарського засобу (ЛЗ) має виключати можливі причини мікробної контамінації. Мікробіологічна чистота, що регламентується ДФУ, є важливим показником гарантії якості готової продукції. Тому біофармацевтичні дослідження в аспекті встановлення показника «мікробіологічна чистота» є необхідними з метою регулювання тих факторів, що заздалегідь впливають на якість ЛЗ [1–3].

З метою випробування мікробіологічної чистоти опрацьованого м'якого лікарського засобу (МЛЗ) визначали кількість живих анаеробів (бактерії і гриби), а також присутність патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів: *St. aureus, Ps. aeruginosa*, гриби роду *Candida, Aspergillus*.

Дослідження показника «мікробіологічна чистота» проводили на кафедрі імунології і мікробіології ХМАПО під керівництвом проф. Бірюкової С. В. згідно з вимогами ДФУ.

Матеріали та методи дослідження

Під час проведення експериментальних досліджень авторами використані активні фармацевтичні інгредієнти – CO_2 екстракт ромашки, анестезин, мірамістин, емульгатори, вода, гідрофільні неводні розчинники [4], емульсійні основи, розроблений крем [5–8, 10].

Метою нашої роботи було проведення біологічних досліджень антибактеріальної, протизапальної та знеболювальної дії розробленого крему з мірамістином, анестезином і CO_2 екстрактом ромашки за показником «мікробіологічна чистота» (МБЧ) відповідно до вимог ДФУ [9, 10].

© Колектив авторів, 2018

Визначення показника МБЧ проводили як безпосередньо після виготовлення лікарської форми (ЛФ), так і в процесі її зберігання – в природніх умовах (на момент дослідження ЛФ витримана 3 роки зберігання), при двох температурних режимах: +2–+8 °С, +18–+25 °С.

Для проведення випробувань препарату на МБЧ використовували тіогліколеве напіврідке середовище, рідке середовище Сабуро, тверді поживні середовища: живильний агар, середовище Сабуро, а також середовище Чистовича, кров'яний агар на основі живильного агару та середовище Ендо, що відповідали вимогам ДФУ.

Перед дослідженням на МБЧ проводили випробування на відповідність ростових властивостей живильних середовищ. Живильні середовища інокулювали невеликою кількістю відповідних тест-штамів мікроорганізмів ($10–10^2$ колонієутворюючих (КУО) одиниць на мл середовища – КУО/мл).

Для тестування використовували робочі суспензії мікроорганізмів відповідно до вимог ДФУ [5], які вирощували кожний окремо на відповідному поживному середовищі. Тест-штами грибів вирощували на поверхні Сабуро-декстрозного агару (без додавання антибіотика) за температури 20–25 °С. На живильному агарі вирощували – *Ps. aeruginosa і B. subtilis,* на Чистовича – *St. aureus*. Тест-штами бактерій *E. coli* вирощували на живильному агарі та середовищі Ендо за температури 30–35 °С протягом 18–24 год. Тест-штам мікроорганізму *C. albicans* вирощували упродовж 48 год, тест-штам мікроорганізму *A. brasiliensis* – 5–7 діб. Тіоглеколеве середовище витримували в термостаті за температури 35 ºС три доби.

Поживні середовища відповідали за ростовими, інгібіторними, індикативними властивостями та витримували випробування на стерильність відповідно до вимог ДФУ (табл. 1).

Таблиця 1

Ростові властивості поживних середовищ

Тест-мікрооганізми	Живильні середовища	Умови культивування		Висновки
		температура, ºС	тривалість, год	
Staphylococcus aureus АТСС 6538	Чистовича	35	24–72	Морфологія колоній та клітин типова
Escherichia coli АТСС 25922	Ендо	35	24–72	Морфологія колоній та клітин типова
Bacillus subtilis АТСС 6633	Соєво-казеїновий агар	35	24–72	Морфологія колоній та клітин типова
Pseudomonas aeruginosa АТСС 9027	Соєво-казеїновий агар	35	24–72	Морфологія колоній та клітин типова
Candida albicans АТСС 885/653	Сабуро	25	24–120	Морфологія колоній та клітин типова
Х	Тіогліколеве середовище для контролю стерильності	35	24–72	Зростання мікроорганізмів відсутнє

Примітка: Х – мікроорганізми не засівали.

Дані табл. 1 свідчать, що всі культури мікроорганізмів відповідали таксономічному штаму, а морфологія колоній при культивуванні на середовищах і морфологія клітин

при мікроскопії була типовою. Тіогліколеве середовище відповідало вимогам на стерильність – зростання мікроорганізмів відсутнє, а середовище прозоре. Перелік та призначення тест-мікроорганізмів наведено у табл. 2.

Обов'язковим етапом поведених досліджень була перевірка придатності методики визначення загального числа бактерій та грибів [9].

Перевірку придатності методики визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС) і дріжджових та плісеневих грибів (ТУМС) проводили відповідно до вимог ДФУ.

Таблиця 2

Тест-мікроорганізми, використані для перевірки придатності методики

Тест-мікрооганізм	Номер штаму	Придатность методики випробування
Bacillus subtilis	АТСС 6633	На загальне число аеробних мікроорганізмів
Staphylococcus aureus	АТСС 6538	На загальне число аеробних мікроорганізмів та випробування на окремі види мікроорганізмів
Escherichia coli	АТСС 25922	На загальне число аеробних мікроорганізмів та випробування на окремі види мікроорганізмів
Pseudomonas aeruginosa	АТСС 9027	На загальне число аеробних мікроорганізмів та випробування на окремі види мікроорганізмів
Candida albicans	АТСС 10231	На загальне число аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісеневих грибів
Aspergillus brasiliensis	АТСС 16404	На загальне число аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісеневих грибів

Кількісне визначення КУО тест-мікроорганізмів у суспензіях проводили методом висівання у чашки Петрі з соєво-казеїновим агаром (СКА) для ТАМС та з Сабуро-декстрозним агаром (СДА) для ТУМС.

Для верифікації умов випробування проводили негативний контрольний дослід, використовуючи для висівання у живильні середовища стерильний розчинник. Інкубували посіви згідно з вимогами ДФУ, підраховували число колоній на кожній чашці Петрі, визначали середнє арифметичне значення числа колоній.

Дослідження проводили на п'яти серіях (по п'ять зразків у кожній). Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою пакета Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA). Дані в таблицях наведено у вигляді x ± SE, де x – середнє значення показника, SE – стандартна похибка. Результати вважались статистично достовірними за $P < 0,05$ [11].

Результати дослідження та обговорення

Для перевірки придатності методики визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) готували випробовуваний зразок препарату у розведенні 1:10 та 1:100 по п'ять зразків (табл. 3).

Дані таблиці свідчать, що випробовуваний препарат в розведенні 1:10 пригнічує ріст *B. subtilis, S. aureus* та *P. aeruginosa*. В розведенні 1:100 пригнічує ріст *B. subtilis, S. aureus.*

Таблиця 3

Результати перевірки придатності методики випробування на загальне число ТАМС і ТУМС

Назва зразка	Середнє число КУО в 1 мл зразка						
	B. subtilis	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*C. albicans*		*A. brasiliensis*	
	СКА	Чистовича	СКА	СКА	СДА	СКА	СДА
Розведення 1:10							
Суспензія мікроорганізмів + досліджуваний ЛЗ 1:10	0/0	0/0	28/24	58/60	64/63	69/71	71/70
Контрольна суспензія мікроорганізмів	87/93	75/78	56/58	63/62	61/62	72/74	70/73
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній						
Розведення 1:100							
Суспензія мікроорганізмів + досліджуваний ЛЗ м/о	43/46	30/36	52/54	60/61	-	68/73	-
Контрольна суспензія мікроорганізмів	87/93	75/78	56/58	63/62	-	72/74	-
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній						

У зв'язку зі зазначеним, із метою усунення антимікробної дії препарату були використані інактиватори у складі фізіологічно-буферного розчину (ФБР): саме 5% – полісорбат-80, 0,5% – соєвий лецитин, 0,1% – гістидин гідрохлорид (табл. 4).

Таблиця 4

Оцінка впливу фізіологічно-буферного розчину на антимікробну дію досліджуваного лікарського засобу

Назва зразка	Середнє число КУО в 1 мл зразка						
	B. subtilis	*S. aureus*	*P. aeruginosa*	*C. albicans*		*A. brasiliensis*	
	СКА	СКА	СКА	СКА	СДА	СКА	СДА
Розведення 1:10							
Суспензія мікроорганізмів + досліджуваний ЛЗ	0/0	0/0	20/22	81/76	83/81	64/60	65/64
Контрольна суспензія мікроорганізмів	92/94	66/68	51/53	83/84	85/81	63/63	66/68
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній						
Розведення 1:100							
Суспензія мікроорганізмів + досліджуваний ЛЗ	23/21	13/21	52/48	82/84	-	62/66	-
Контрольна суспензія мікроорганізмів	92/94	66/68	51/53	83/84	-	85/81	-
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній						

Дані таблиці свідчать, що випробовуваний препарат в розведенні 1:10 та 1:100 пригнічує ріст тест-мікрорганізмів *B. subtilis, St. aureus* та *Ps. aeruginosa*.

Приведені результати спричинили необхідність вивчення можливості використання для визначення загального числа бактерій методу мембранного фільтрування (табл. 5).

Таблиця 5

Перевірка придатності методики випробування на загальне число ТАМС методом мембранного фільтрування

Назва зразка	Число КУО на одному фільтрі						
	B. subtilis	*S. aureus*	*P. aerugiosa*	*C. albicans*		*A. brasiliensis*	
	СКА	СКА	СКА	СКА	СДА	СКА	СДА
Розведення 1:10							
Суспензія мікроорганізмів + досліджуваний ЛЗ	69/65	63/59	46/48	55/59	55/56	75/73	80/78
Контрольна суспензія мікроорганізмів	66/68	54/57	43/44	60/64	60/57	81/80	83/81
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній						

Дані таблиці свідчать, що антимікробна дія випробовуваного препарату відносно зазначених тест-штамів бактерій і грибів методом мембранної фільтрації показує, що ріст тест-мікроорганізмів в присутності та відсутності ЛЗ не відрізняється. Випробовувана методика може бути використана для визначення ТАМС та ТУМС.

Наступним етапом досліджень було проведення перевірки придатності методики випробування на окремі види мікроорганізмів (*St. aureus* та *Ps. aeruginosa*).

Підготовку тест-мікроорганізмів проводили методом послідовних кратних розведень суспензії монокультур тест-мікроорганізмів *St. aureus* та *Ps. aeruginosa* у фосфатному буферному розчині з натрію хлоридом і пептоном, pH 7,0, до концентрації не більше 10^3 КУО/мл. Кількісне визначення КУО тест-мікроорганізмів у робочій суспензії проводили методом висівання 0,1 мл суспензії у кожну з двох чашок Петрі з живильним середовищем СКА (табл. 6).

Таблиця 6

Результати перевірки придатності методики при випробуванні на наявність *St. aureus і Ps. aeruginosa*

Тест-мікроорганізм	Наявність росту на середовищах						КУО
	дослід		контроль		негативний контрольний дослід		
	на рідких	на густих	на рідких	на густих	на рідких	на густих	
St. aureus	Розведення 1:10						76/72
	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	
	Розведення 1:50						
	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	
Ps. aeruginosa	Розведення 1:10						57/60
	-/-	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	
	Розведення 1:50						
	-/-	+/-	+/+	+/+	-/-	-/-	

Примітки: «+» – наявність росту; «-» – відсутність росту.

З метою усунення антимікробної дії препарату було використано метод мембранної фільтрації.

Використовували мембранні фільтри діаметром пор 0,45 мкм фірми MILLIPORE, виробництва Франція. Інкубацію посівів проводили за температури 30–35 ºС 18–24 год відповідно до вимог ДФУ. Після закінчення терміну інкубації проводили пересівання на поверхню манітно-сольового агару. Посіви інкубували в термостаті за температури 30–35 °С упродовж 18–72 год (табл. 7).

Таблиця 7

Результати перевірки придатності методики випробування методом мембранної фільтрації

Тест-мікроорганізм	Наявність росту на середовищах						КУО
	дослід		контроль		негативний контрольний дослід		
	на рідких	на густих	на рідких	на густих	на рідких	на густих	
St. aureus	препарат в розведенні 1:10						72/69
	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	
Ps. aeruginosa	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	65/71

Примітки: «+» – наявність росту; «-» – відсутність росту.

Результати, наведені в табл. 7, свідчать, що метод мембранної фільтрації усуває антимікробну дію відносно тест-штамів.

Наступним етапом наших досліджень було проведення випробування опрацьованого МЛЗ, який був витриманий в різних умовах зберігання, згідно з розробленими методиками за показником МБЧ.

Визначення загального числа ТАМС і ТУМС проводили таким чином: пропускали через мембранні фільтри по 10 мл підготовленої проби зразка ЛЗ, відмивали п'ятьма порціями по 100 мл 0,9%-го стерильного розчину NaCl, фільтри вміщували на поверхню СКА та СДА. Інкубували в термостаті за температури 30–35 ºС упродовж 3–5 діб (для ТАМС) та 20–25 ºС упродовж 5–7 діб (для ТУМС).

Випробування на відсутність *St. aureus і Ps. aeruginosa* проводили таким чином: пропускали через мембранний фільтр 10 мл підготовленої проби ЛЗ, відмивали п'ятьма порціями по100 мл 0,9%-го стерильного розчину NaCl. Фільтр вміщували у 100 мл СКБ.

Після закінчення терміну інкубації проводили пересівання на поверхню манітно-сольового агару *(St. aureus*) та на поверхню цетримідного агару (*Ps. aeruginosa*). Посіви інкубували в термостаті за температури 30–35 °С упродовж 18–72 год (табл. 8).

Таблиця 8

Результати дослідження розробленого крему на мікробіологічну чистоту

Умови та термін зберігання	Крем				
	№ зразка	Загальна кількість			
		ТАМС	ТУМС	*St. aureus*	*Ps. aeruginosa*
1. Безпосередньо після виготовлення	1	менше 100	менше 10	Відсутні	Відсутні
2. Зберігання 27 міс в природніх умовах					
2.1. за +18 – +25 °С	1а	менше 100	менше 10	Відсутні	Відсутні
2.2. за +2 –+8 °С	1б	менше 100	менше 10	Відсутні	Відсутні

Висновки

1. Нормування МБЧ розробленого крему встановлено відповідно до вимог ДФУ як для готових ЛЗ категорії 2.

2. Розроблено методику випробувань опрацьованого крему для вивчення МБЧ. Встановлено, що оптимальним є метод мембранного фільтрування для визначення загального числа життєздатних аеробних бактерій, а для грибів – метод прямого висівання.

Результати експерименту можуть бути використані як основа для розроблення крему з антибактеріальною, протизапальною та анестезуючою дією.

Список використаної літератури

1. *Abrantes C. G., Duarte D., Reis C. P.* An overview of pharmaceutical excipients: safe or not safe. – J. Pharmaceutical Sci. – 2016. – V. 105, N 7. – P. 2019–2026. https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.03.019

2. *Maisch T.* Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future. Lasers in Medical Science. – 2007. – V. 22, N 2. – P. 83–91. https://doi.org/10.1007/s10103-006-0409-7

3. *Некрасова Л. С., Свита В. М., Глушкевич Т. Г. та ін.* Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: Метод. вказівки МВ 9.9.5-143-2007. – К.: Офіц. вид., 2007. – 73 с.

4. *Руденко В. В., Власенко І. О., Ващук В. А.* Вивчення осмотичної активності комбінації гідрофільних неводних розчинників для моделювання препарату при лікуванні 1 фази ранового процесу // Фармац. журн. – 2013. – № 1. – С. 46–49.

5. *Chan B. A., Sunting X., Li A. et al.* Polypeptid polymers: synthesis, characterization, and properties // Biopolymers. – 2017. https://doi.org/10.1002/bip.23070

6. *Haag R., Kratz F.* Polymer therapeutics: concepts and applications // Angewandte Chemie Inter. Edition in English. – 2006. – V. 45, N 8. – P. 1198–1215. https://doi.org/10.1002/anie.200502113

7. *Kadajji V. G., Betageri G. V.* Water soluble polymers for pharmaceutical Applications // Polymers. – 2011. – V. 3, N 4. – P. 1972–2009. https://doi.org/10.3390/ polym3041972

8. *Swarbrick J.* Encyclopedia of pharmaceutical science and technology. – Fourth Edition, Six Volume Set Dasel Marcel Dekker, New York, 2013. ISBN 9781841848198-CAT# H100233.

9. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Друге вид. – Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – С. 775–776.

10. Scientia Pharmaceutica: Abstracts of 4th Central European Symp. on Pharmaceutical Technology, 23–25 Sep., 2001. – Suppl. 1, Sci. Pharm. 69. –330 p.

11. *Минцер О. П., Угаров Б. Н., Власов В. В.* Методы обработки медицинской информации: Уч. пособие. – К.: Вища школа, 2003. – 271 с.

References

1. *Abrantes C. G., Duarte D., Reis C. P.* An overview of pharmaceutical excipients: safe or not safe. – J. Pharmaceutical Sci. – 2016. – V. 105, N 7. – P. 2019–2026. https://doi.org/10.1016/j.xphs.2016.03.019

2. *Maisch T.* Anti-microbial photodynamic therapy: useful in the future. Lasers in Medical Science. – 2007. – V. 22, N 2. – P. 83–91. https://doi.org/10.1007/s10103-006-0409-7

3. *Nekrasova L. S., Svita V. M., Hlushkevich T. G.*. Vyznachennya chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterial′nykh preparative. Method. instructions. MB 9.9.5-143-2007. – Kyiv, 2007.

4. *Rudenko V. V., Vlasenko I. O., Vashchuk V. A.* Vyvchennya osmotychnoyi aktyvnosti kombinatsiy hidrofil’nykh nevodnykh rozchynnykiv dly modelyuvannya preparatu, dlya likuvannya I fazy ranovoho protsesu // Pharmac. J. – 2013. – N 1. – P. 46–49. ISSN 0367-3057.

5. *Chan B. A., Sunting X., Li A. et al.* Polypeptid polymers: synthesis, characterization, and properties // Biopolymers. – 2017. https://doi.org/10.1002/bip.23070

6. *Haag R., Kratz F.* Polymer therapeutics: concepts and applications // Angewandte Chemie Inter. Edition in English. – 2006. – V. 45, N 8. – P. 1198–1215. https://doi.org/10.1002/anie.200502113

7. *Kadajji V. G., Betageri G. V.* Water soluble polymers for pharmaceutical Applications // Polymers. – 2011. – V. 3, N 4. – P. 1972–2009. https://doi.org/10.3390/ polym3041972

8. *Swarbrick J.* Encyclopedia of pharmaceutical science and technology. – Fourth Edition, Six Volume Set Dasel Marcel Dekker, New York, 2013. ISBN 9781841848198-CAT# H100233.

9. *Hryzodub O. I.* (ed.), Derzhavna Farmakopeya Ukrayiny. DP «Ukrayins'kiy naukoviy farmakopeyniy tsentr yakosti likars'kykh zasobiv». – Kharkiv, 2015. – T. 1. – S. 775–776. ISBN 978-966-97390-0-1.

10. Scientia Pharmaceutica: Abstracts of 4th Central European Symp. on Pharmaceutical Technology, 23–25 Sep., 2001. – Suppl. 1, Sci. Pharm. 69. –330 s.

11. *Mincer O. P., Voronenko Y. V., Vlasov V. V.* Obroblennya klinichnykh i eksperymental'nykh danykh u medytsyni. – K.: Vishha shkola, 2003. – 271 s. ISBN 966-6420160-7.

Надійшла до редакції 1 грудня 2018 р.
Прийнято до друку 10 грудня 2018 р.

Л. Л. Давтян [1] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
О. П. Шматенко[2] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
В. О. Тарасенко[2] (https://orcid.org/0000-0002-3614-6752),
О. М. Власенко[2] (https://orcid.org/0000-0001-8362-2021),
Г. В. Осьодло[2] (https://orcid.org/0000-0001-7563-8090),
Н. М. Орлова[1] (https://orcid.org/0000-0003-1444-7287)
[1] Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика, м. Київ
[2] Українська військово-медична академія, м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ КРЕМУ З МІРАМІСТИНОМ, АНЕСТЕЗИНОМ І CO_2 ЕКСТРАКТОМ РОМАШКИ ДЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ У ХІРУРГІЧНІЙ ПРАКТИЦІ

Ключові слова: мікробіологічна чистота, поживне середовище, тест-штам, лікарський засіб, крем, мірамістин, анестезин, CO_2 екстракт ромашки

А Н О Т А Ц І Я

Мікробній контамінації піддаються будь-які готові лікарські форми, в тому числі і м'які лікарські форми. Її причиною може бути мікробне забруднення рослинної лікарської сировини, повітря, виробничих приміщень, обладнання, посуду, води, рук персоналу, загальне недотримання санітарно-епідемічного режиму виробництва і т. д.

Метою роботи було проведення біологічних досліджень розробленого крему з мірамістином, анестезином і CO_2 екстрактом ромашки за показаником «мікробіологічна чистота» відповідно до вимог ДФУ.

Об'єктом дослідження були CO_2 екстракт ромашки, анестезин, мірамистин, емульгатори, розроблений крем.

Кількісне визначення КУО тест-мікроорганізмів у суспензіях проводили методом висівання в чашки Петрі з соєво-казеїновим агаром для бактерій і середовищем Сабуро для грибів.

Дослідження мікробіологічні чистоти досліджуваних зразків крему проводили відповідно до вимог ДФУ 1 вид., п. 5.1.4.. Випробування проводили з використанням методу прямого висівання. Оцінка ступеня мікробного обсіменіння досліджуваних зразків кремів складалася з визначення загального числа аеробних бактерій і грибів в 1,0 г зразка, а також з відсутності бактерій родини *Enterobacteriaceae*, *St. aureus* і *Ps. aeruginosa*.

Для верифікації умов дослідження проводили негативне контрольне дослідження, використовуючи для висівання в живильні середовища стерильний розчинник.

На підставі експериментальних досліджень встановлено, що оптимальним для визначення загального числа життєздатних аеробних бактерій є метод мембранного фільтрування, а для грибів – метод прямого висівання.

У ході проведеного експерименту встановлено, що загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів менше 100, а дріжджових і плісневих грибів менше 10 в 1 г кожного зразка; *St. aureus* і *Ps. aeruginosa* і деяких інших грамнегативних бактерій не визначено, що відповідає вимогам ДФУ.

Л. Л. Давтян[1] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
А. П. Шматенко[2] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
В. А. Тарасенко[2] (https://orcid.org/0000-0002-3614-6752),
О. Н. Власенко[2] (https://orcid.org/0000-0001-8362-2021),
Г. В. Оседло[2] (https://orcid.org/0000-0001-7563-8090),
Н. М. Орлова[1] (https://orcid.org/0000-0003-1444-7287)
[1] Национальная медицинская академия последипломного образования имени П. Л. Шупика, г. Киев
[2] Украинська военно-медицинская академия, г. Киев

ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ КРЕМА С МИРАМИСТИНОМ, АНЕСТЕЗИНОМ И CO_2 ЭКСТРАКТОМ РОМАШКИ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Ключевые слова: микробиологическая чистота, питательная середа, тест-штамм, лекарственное средство, крем, мирамистин, анестезин, CO_2 экстракт ромашки

А Н Н О Т А Ц И Я

Микробной контаминации подвергаются любые готовые лекарственные формы, в том числе и мягкие лекарственные формы. Ее причиной может быть микробное загрязнение растительного лекарственного сырья, воздуха, производственных помещений, оборудования, посуды, воды, рук персонала, общее несоблюдение санитарно-эпидемического режима производства и т. п.

Целью работы было проведение биологических исследований разработанного крема с мирамистином, анестезином и CO_2 экстрактом ромашки по показателю «микробиологическая чистота» в соответствии с требованиями ГФУ.

Объектом исследования были CO_2 экстракт ромашки, анестезин, мирамистин, эмульгаторы, разработаный крем.

Количественное определение КУО тест-микроорганизмов в суспензиях проводили методом висеивания в чашки Петри с соево-казеиновым агаром для бактерий и средой Сабуро для грибов.

Исследования микробиологичесой чистоты образцов крема проводили в соответствии с требованиями ГФУ 1 изд., п. 5.1.4.. Испытания проводили с использованием метода прямого высеивания. Оценка степени микробного обсеменения исследуемых образцов кремов состояла в определения общего числа аэробных бактерий и грибов в 1,0 г образца, а также остутствия бактерий семейства *Enterobacteriaceae, St. aureus* и *Ps. aeruginosa*.

Для верификации условий исследования проводили негативное контрольное исследование, используя для висеивания на питательные среды стерильный растворитель.

На основании экспериментальных исследований установлено, что оптимальным для определения общего числа жизнеспособных аэробных бактерий есть метод мембранного фильтрованния, а для грибов – метод прямого висеивания.

В ходе проведенного эксперимента установлено, что общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов меньше 100, а дрожжевых и плесневых грибов меньше 10 в 1 г каждого образца; *St. aureus* и *Ps. aeruginosa* и некоторых других грамнегативных бактерий не определено, что соответствует требованиям Государственной ФармакопеиУкраины.

L. L. Davtian[1] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
O. P. Shmatenko[2] (https://orcid.org/0000-0002-6145-460X),
V. A. Tarasenko[2] (https://orcid.org/0000-0002-3614-6752),
O. M. Vlasenko[2] (https://orcid.org/0000-0001-8362-2021),
G. V. Osedlo[2] (https://orcid.org/0000-0001-7563-8090),
N. M. Orlova[1] (https://orcid.org/0000-0003-1444-7287)
[1] Shupyk National Medical Academy of Post-Graduate Education, Kyiv
[2] Ukrainian Military Medical Academy, Kyiv

STUDY OF MICROBIOLOGICAL PURITY WITH MYRAMISTIN, ANESTHEZINE AND CO_2 CHAMOMILE EXTRACT FOR USE IN SURGICAL PRACTICE

Key words: microbiological purity; nutrient medium; test strain; drug; cream; miramistin; anesthesin; CO_2 chamomile extract

A B S T R A C T

Any finished dosage forms, including soft dosage forms, are subject to microbial contamination. It can be caused by microbial contamination of plant-based medicinal raw materials, air, industrial premises, equipment, utensils, water, personnel's hands, general non-compliance with the sanitary and epidemic regime of production, etc.

The aim of the study was to conduct a biological study of the developed cream with Miramistin, anesthesin and CO_2 chamomile extract in terms of "microbiological purity" in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

The object of the study was CO_2 chamomile extract, anesthesin, miramistin, emulsifiers, the developed cream.

Quantitative determination of the colony forming units of test microorganisms in suspensions was carried out by hanging in Petri dishes with soybean casein agar for bacteria and Saburo medium for fungi.

Studies of the microbiological purity of the investigated samples of the cream were carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine 1 ed., Paragraph 5.1.4.. Tests were performed using the direct sowing method. The assessment of the degree of microbial contamination of the investigated creams samples consisted of determining the total number of aerobic bacteria and fungi in 1.0 g of the sample, as well as the absence of bacteria of the family *Enterobacteriaceae*, *St. aureus* and *Ps. aeruginosa*.

To verify the study conditions, a negative control study was performed using a sterile solvent for hanging on nutrient media.

On the basis of experimental studies, it was found that the optimum method is membrane filtration for determining the total number of viable aerobic bacteria, and for fungi, the direct hanging method.

In the course of the experiment, it was established that the total number of viable aerobic microorganisms is less than 100, and yeast and mold fungi are less than 10 per 1 g of each sample; *St. aureus* and *Ps. aeruginosa* and some other gram-negative bacteria are not defined, which meets the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Електронна адреса для листування з авторами: vikatarasenko83@ukr.net
(Тарасенко В.О.)