

**І. М. КУШНІР**, кандидат сільськогосподарських наук

**І. Я. КОЦІУМБАС**, доктор ветеринарних наук, членкор НААН

**Г. В. КУШНІР**, кандидат ветеринарних наук

**О. І. ЧАЙКОВСЬКА**, кандидат біологічних наук

*Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів*

## **ВПЛИВ МІКРОСКОПІЧНИХ ГРИБІВ НА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ДОПОМІЖНИХ РЕЧОВИН**

*У статті висвітлено питання термінів виживання мікроскопічних грибів у мазевих основах. Встановлено, що мікроскопічні гриби здатні тривалий час зберігати свою життєздатність у вазеліні, гліцерині та ланоліні. При цьому ланолін сприятливіший для виживання та розмноження мікроскопічних грибів, що зумовлювало зміну його фармакологічних властивостей, на що вказували і результати визначення перекисного числа жиру.*

*Ключові слова: мікроорганізм, гриби, ланолін, вазелін, A. niger.*

Мікробіологічна чистота – важлива складова якості лікарських засобів, якій приділяють велику увагу на стадії їх реєстрації, при виробництві та реалізації. Для того, щоб препарат відповідав вимогам нормативної документації, необхідно проводити заходи із забезпечення належної мікробіологічної чистоти [1, 2]. У протилежному випадку виникає небезпека нанесення шкоди макроорганізму. При цьому мікробна контамінація лікарського засобу може вплинути й на терапевтичну ефективність препарату [3].

Крім зниження терапевтичної ефективності, наявність мікроорганізмів у лікарському засобі може спричинити інфікування макроорганізму, зумовлене застосуванням забруднених патогенними бактеріями або грибами препаратів [4, 5] та негативно впливати на їх стабільність. Під впливом ферментів, що продукуються мікроорганізмами відбуваються незворотні зміни у вихідній консистенції маzewої основи, а також з'являється неприємний запах, що суттєво знижує якість препарату [3].

У проблемі забруднення нестерильних лікарських засобів питання мікробіологічної чистоти займає значне місце у зв'язку зі здатністю мікроорганізмів виживати у препаратах. Майже всі нестерильні лікарські засоби, які в процесі виробництва не підлягали стерилізації, можуть містити різноманітні мікроорганізми, які не тільки здатні тривалий час виживати, але й розмножуватися [6].

Проте, дані щодо виживання мікроорганізмів у лікарських засобах досі суперечливі. Тому метою нашої роботи було визначити терміни виживання мікроскопічних грибів у мазевих основах та встановити їх вплив на фармакологічні властивості останніх.

**Матеріали і методи.** Для встановлення терміну виживання мікроорганізмів у мазевих основах проводили штучне зараження досліджуваних зразків плісня-

вими (*A. niger* ATCC 16404) та дріжджоподібними (*C. albicans* ATCC 10231) грибами. З цією метою тест-культури грибів вирощували на середовищі Сабуро упродовж п'яти діб. Після цього культури змивали ізотонічним розчином натрію хлориду з 1 % вмістом полісорбату-80 та готували завись із розрахунку  $10^3$  КУО/см<sup>3</sup>. У досліджувані проби мазевих основ вносили культури грибів та рівномірно розподіляли у зразках. Як мазеві основи використовували гліцерин, вазелін та ланолін. Інокульовані зразки розділяли на дві частини, одну зберігали за температури 6 °С, а другу – 20 °С. Визначення кількості грибів після їх внесення у гліцерин, вазелін та ланолін проводили в динаміці через 3, 7, 14, 21, 30, 60, 90 діб.

Перекисне число жиру визначали титрометричним методом. До досліджуваного зразка додавали 10 см<sup>3</sup> хлороформу, 10 см<sup>3</sup> льодяної оцтової кислоти і 0,5 см<sup>3</sup> йодистого калію. Ставили в темне місце на 3 хв., потім додавали 100 см<sup>3</sup> 0,01 % розчину крохмалю і титрували 0,01 М розчином натрію тіосульфату.

**Результати досліджень.** На початковому етапі досліджень було встановлено терміни виживання плісневих та дріжджоподібних грибів у вазеліні та гліцерині. Вплив вазеліну та гліцерину на виживання *A. niger* та *C. albicans* при зберіганні за різних температурних режимів наведено у табл. 1.

Таблиця 1

### Вживання мікроскопічних грибів у вазеліні та гліцерині (M±m, n=5)

Внесено КУО/см <sup>3</sup>	Доби	Вазелін		Гліцерин	
		6 °С	20 °С	6 °С	20 °С
<i>A. niger</i> , 1,1±0,8·10 <sup>3</sup>	30	7,6±0,5·10 <sup>2</sup> **	7,2±0,3·10 <sup>2</sup> **	7,2±0,3·10 <sup>2</sup> **	6,8±0,4·10 <sup>2</sup> **
	60	5,8±0,3·10 <sup>2</sup> ***	5,4±0,7·10 <sup>2</sup> ***	6,4±0,5·10 <sup>2</sup> **	6,0±0,4·10 <sup>2</sup> ***
	90	5,6±0,4·10 <sup>2</sup> ***	5,0±0,3·10 <sup>2</sup> ***	4,2±0,3·10 <sup>2</sup> ***	3,8±0,4·10 <sup>2</sup> ***
<i>C. albicans</i> , 6,5±0,1·10 <sup>2</sup>	30	6,0±0,1·10 <sup>2</sup>	5,7±0,1·10 <sup>2</sup> *	5,9±0,1·10 <sup>2</sup>	5,7±0,1·10 <sup>2</sup> *
	60	5,1±0,1·10 <sup>2</sup> **	4,7±0,1·10 <sup>2</sup> ***	4,6±0,1·10 <sup>2</sup> ***	4,3±0,1·10 <sup>2</sup> ***
	90	2,4±0,1·10 <sup>2</sup> ***	2,3±0,1·10 <sup>2</sup>	2,6±0,1·10 <sup>2</sup> ***	2,2±0,1·10 <sup>2</sup> ***

**Примітка:** \* – p<0,05; \*\* – p<0,01; \*\*\* – p<0,001, порівняно з внесенням.

Як видно з даних табл. 1, кількість *A. niger* на 30 добу після внесення у вазелін за температури зберігання 6 та 20 °С зменшувалась, відповідно, на 35,6 та 39 % (p<0,01). Значне зменшення кількості *A. niger* у 2 та 2,1 рази (p<0,001) відбувалося на 60 добу, а на 90 добу – у 2,1 та 2,3 рази (p<0,001). Таку ж тенденцію виявляли і при внесенні *A. niger* у гліцерин.

Кількість *C. albicans* на 30 добу після внесення у вазелін за температури зберігання 6 та 20 °С зменшувалась, відповідно, на 7,6 та 12,3 % (p<0,05), на 60 добу – на 21,5 (p<0,01) та 27,6 % (p<0,001), а на 90 добу – у 2,7 та 2,8 рази (p<0,001).

У подальшому було вивчено терміни виживання мікроскопічних грибів у ланоліні. Результати досліджень наведено у табл. 2.

### Вживання мікроскопічних грибів у ланоліні ( $M \pm m$ , $n=5$ )

Тест-штами	Внесено, КУО/см <sup>3</sup>	Доби	Температура зберігання	
			6 °С	20 °С
<i>A. niger</i>	$1,1 \pm 0,8 \cdot 10^3$	3	$1,10 \pm 0,46 \cdot 10^3$	$1,10 \pm 0,23 \cdot 10^3$
		14	$1,00 \pm 0,16 \cdot 10^3$	$1,20 \pm 0,39 \cdot 10^3$
		21	$0,98 \pm 0,18 \cdot 10^3$	$1,21 \pm 0,15 \cdot 10^3$
		30	$0,96 \pm 0,18 \cdot 10^3$	$1,10 \pm 0,12 \cdot 10^3$
		60	$0,93 \pm 0,18 \cdot 10^3$	$1,00 \pm 0,27 \cdot 10^3$
<i>C. albicans</i>	$6,5 \pm 0,1 \cdot 10^2$	3	$6,40 \pm 0,21 \cdot 10^2$	$6,30 \pm 0,13 \cdot 10^2$
		14	$6,00 \pm 0,16 \cdot 10^2$	$5,82 \pm 0,27 \cdot 10^2$ *
		21	$5,62 \pm 0,22 \cdot 10^2$	$5,50 \pm 0,20 \cdot 10^2$ **
		30	$5,02 \pm 0,16 \cdot 10^2$	$5,00 \pm 0,21 \cdot 10^2$ **
		60	$4,22 \pm 0,12 \cdot 10^2$	$4,12 \pm 0,17 \cdot 10^2$ ***

Примітка: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ , порівняно з внесенням.

Як видно з даних, наведених у табл. 2, на 14 добу після внесення культури *A. niger* у ланолін та зберіганні за температури 20 °С, встановили її збільшення на 9,1 %, порівняно з контролем. Таку ж тенденцію виявили і на 21 добу після внесення культури, її кількість збільшилась на 10 %. У подальшому, на 60 добу, встановили зменшення кількості *A. niger* на 9,1 %. При дослідженні *C. albicans*, виявили зменшення її кількості як при 6, так і 20 °С. Зокрема, на 14, 21, 30 та 60 доби при температурі зберігання 20 °С, число *C. albicans* зменшувалось, відповідно, на 10,5 ( $p < 0,05$ ), 15,4, 23,1 ( $p < 0,01$ ), та 36,6 % ( $p < 0,001$ ).

Наступним етапом дослідження було встановити вплив мікроорганізмів на показники псування мазевих основ за різних температурних режимів. Результати визначення перекисного числа жирів у вазеліні, гліцерині та ланоліні наведено у табл. 3.

Як видно з даних табл. 3, при внесенні мікроскопічних грибів у різні мазеві основи встановили зміни перекисного числа жиру у гліцерині та ланоліні. Зокрема, у гліцерині, який був контамінований *A. niger*, після 60 добового культивування за температури 20 °С, встановили вірогідне збільшення перекисного числа жиру, порівняно з контролем, на 11,7 % ( $p < 0,05$ ). Найбільші зміни щодо підвищення перекисного числа жиру виявляли у ланоліні, при зберіганні його за температури 20 °С. Так, перекисне число жиру при забрудненні *A. niger* збільшувалося на 10,0 % ( $p < 0,05$ ), а при забрудненні *C. albicans* – на 6,6 % ( $p < 0,05$ ). При зберіганні забрудненого ланоліну (*A. niger*), за температури 6 °С, встановили збільшення перекисного числа жиру на 10 % ( $p < 0,05$ ).

**Висновок.** 1. Мікроскопічні гриби тривалий час зберігали свою життєздатність у ланоліні, вазеліні та гліцерині, причому їх кількість була значно вища у ланоліні.

2. При зберіганні ланоліну за температури 20 °С, в який було внесено культуру *A. niger*, на 14 та 21 доби збільшувалась величина перекисного числа жиру – на 10,0 та 11,7 % ( $p < 0,05$ ), порівняно з контролем.

**Перспективою подальших досліджень** є вивчення термінів вживання мікроскопічних грибів у ветеринарних препаратах.

**Перекисне число жиру на 60 добу після забруднення мазевих основ  
мікроскопічними грибами (% йоду) ( $M \pm m$ ,  $n=5$ )**

Мазеві основи	Культури	Температура, °C	
		6	20
Вазелін	Контроль	0,14±0,01	0,15±0,01
	<i>A. niger</i>	0,15±0,01	0,16±0,01
	<i>C. albicans</i>	0,15±0,01	0,16±0,01
Гліцерин	Контроль	0,16±0,01	0,17±0,01
	<i>A. niger</i>	0,16±0,01	0,19±0,01**
	<i>C. albicans</i>	0,18±0,01	0,18±0,01
Ланолін	Контроль	0,20±0,01	0,30±0,01
	<i>A. niger</i>	0,22±0,01*	0,33±0,01*
	<i>C. albicans</i>	0,21±0,01	0,32±0,01*

**Примітка:** \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ , порівняно до контролю

### Список використаної літератури

1. Лікарські засоби. Належна виробнича практика СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2008. / [М. Ляпунов, В. Загорів, О. Безугла та ін.]. – К. : МОЗ України, 2009. – 294 с.
2. Соловьев А. Будущее фармацевтики невозможно без внедрения GLP и создания принципиально новых лекарственных препаратов / А. Соловьев, А. Стефанов // Вісник фармакології та фармацевції. – 2003. – № 6. – С. 13–15.
3. Батюк В. С. Про деякі проблеми створення та виробництва лікарських засобів в Україні / В. С. Батюк // Фармацевтичний журнал. – 1994. – № 3. – С. 3–6.
4. Гунар О. В. Риск получения ложных микробиологических результатов при контроле качества лекарственных средств / О. В. Гунар // Фармація. – 2005. – № 2. – С. 29–31.
5. Гунар О. В. Зависимость уровня микробиологической чистоты лекарственных средств от природы субстанций / О. В. Гунар, К. А. Каграманова // Материалы IX междунар. съезда: Фитофарм. – С.Пб., 2005. – С. 249–251.
6. Егоров Н. С. Биологические повреждения / Н. С. Егоров, М. Н. Пименова, Н. Ф. Пискунова. – М., 1979. – 115 с.

### **ВЛИЯНИЕ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ / И. М. Кушнир, И. Я. Коцюмбас, Г. В. Кушнир, А. И. Чайковская**

*В статье освещен вопрос сроков выживания микроскопических грибов в мазевых основах. Установлено, что микроскопические грибы могут длительное время сохранять свою жизнеспособность в вазелине, глицерине и ланолине. При этом ланолин более восприимчив для выживания и размножения микроскопических грибов, что способствовало изменению его фармакологических свойств, свидетельством чего были результаты определения окисления жиров.*

*Ключевые слова:* микроорганизм, грибы, ланолин, вазелин, *A. niger*.

**INFLUENCE OF MICROSCOPIC FUNGI ON PHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF AUXILIARY SUBSTANCE** / I. Kushnir, I. Kotsyumbas, G. Kushnir, O. Chaikovska

*In the article the issue of the survival terms of microscopic fungi in ointment bases is highlighted. It was found out that microscopic fungi are capable to maintain its viability in the vaseline, glycerin and lanoline for long time. Herewith lanoline is more favorable for the survival and reproduction of microscopic fungi that predetermines change of its pharmacological properties, on what points the results of determination of peroxide number of fat.*

*Key words: microorganisms, fungus, lanoline, vaseline, A. niger.*

**Рецензент – кандидат ветеринарных наук И. П. Патерега**