

## Дослідження мікробіологічної чистоти протигрибкових розчинів

О.О.Ващенко, Т.Г.Калинюк, І.М.Кушнір

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,  
Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів і кормових добавок  
Львів, Україна

У статті наведені результати досліджень мікробіологічної чистоти протигрибкових розчинів для зовнішнього застосування, які містять ундециленову і саліцилову кислоти (розчин 1), тербінафіну гідрохлорид і саліцилову кислоту (розчин 2). Встановлено, що розроблені лікарські засоби (як свіжовиготовлені зразки, так і зразки, що зберігались протягом 12 і 24 місяців) відповідають вимогам Державної фармакопеї України (категорія 2).

**Ключові слова:** протигрибковий розчин, контроль якості, мікробіологічна чистота.

### ВСТУП

Дерматомікози зустрічаються майже у 20% населення, причому рівень інфікованості постійно зростає [1]. Це зумовлено рядом факторів, серед яких провідне місце займають неадекватне лікування чи взагалі ігнорування проблеми як такої [4].

Для лікування мікозів застосовують лікарські засоби (ЛЗ) широкого спектра дії, оскільки грибкові захворювання в основному є поліетіологічними. Окрім високої ефективності, ці засоби повинні характеризуватись високим профілем безпеки, а також бути економічно доступними для широких верств населення.

Ринок протигрибкових ЛЗ є досить насиченим, проте пошук нових лікарських субстанцій, оптимізація складу існуючих препаратів, а також впровадження в медичну практику нових протигрибкових ЛЗ залишається актуальним завданням сучасної фармації.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

На кафедрі технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького розроблено два комбіновані протигрибкові розчини для лікування і профілактики дерматомікозів, трихофітій, кандидозів та інших змішаних інфекцій шкіри. До складу розчинів як діючі речовини введено ундециленову і саліцилову кислоти (розчин 1), тербінафіну гідрохлорид і саліцилову кислоту (розчин 2).

Ундециленова кислота і тербінафіну гідрохлорид — антимікотики з широким спектром дії, які характеризуються відсутністю резистентності і доброю переносимістю пацієнтами [3, 7]. До складу кожного розчину також введено саліцилову кислоту, яка забезпечує кератолітичну дію препарату. Окрім того, саліцилова кислота виявляє протибактерійні властивості, а також її відносять до неспецифічних синтетичних протигрибкових засобів для місцевого застосування [6].

Необхідною складовою розробки нових ЛЗ є їх стандартизація. Важливим показником якості лікарських засобів, що забезпечує стабільність у процесі зберігання, є мікробіологічна чистота [5].

Метою дослідження було вивчити мікробіологічну чистоту розроблених протигрибкових розчинів.

При дослідженні керувались методикою Державної фармакопеї України (ДФУ), яка дає можливість об'єктивно оцінити якісні характеристики зразків на основі експериментально отриманих, статистично оброблених результатів.

Для дослідження використовували свіжовиготовлені зразки (зразок 1) і зразки, що зберігались протягом 12 (зразок 2) і 24 місяців (зразок 3) при температурі  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ .

ТАБЛИЦЯ 1

Результати дослідження мікробіологічної чистоти дослідних зразків

Зразок ЛЗ	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 мл ЛЗ (розведення 1:10)		Мікроорганізми		
	Бактерій	Грибів	Enterobacteriaceae	S.aureus	P.aeruginosa
<b>Розчин 1</b>					
Зразок 1	<10	< 10	BP	BP	BP
Зразок 2	<10	<10	BP	BP	BP
Зразок 3	<10	<10	BP	BP	BP
<b>Розчин 2</b>					
Зразок 1	<10	< 10	BP	BP	BP
Зразок 2	<10	<10	BP	BP	BP
Зразок 3	<10	<10	BP	BP	BP

Примітка: BP – відсутній ріст

Відповідно до вимог ДФУ, норми мікробіологічних показників чистоти розчинів для зовнішнього застосування (категорія 2) повинні складати: загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів – не більше 10<sup>2</sup> (КУО/г) (аеробних бактерій і грибів сумарно); відсутність бактерій *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*) і бактерій родини *Enterobacteriaceae* [2].

Розроблені лікарські засоби виявляють антимікробні властивості, тому з метою попередження помилок при проведенні оцінки мікробної контамінації необхідно нейтралізувати антимікробну активність розчину. Для цього використовували типову нейтралізуючу рідину, яку додавали до буферного розчину натрію хлориду і пептону (рН 7,0) після його стерилізації.

Дослідження мікробіологічної чистоти проводили в асептичних умовах методом прямого посіву. Визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів і грибів проводили методом мембранної фільтрації. Мембранний фільтр, призначений для підрахунку бактерій, поміщали на поверхню твердого середовища В (соєво-казеїновий агар) та інкубували. Фільтр, призначений для підрахунку грибів, інкубували на твердому середовищі С (агар Сабуро із глюкозою та антибіотиками).

Число життєздатних аеробних мікроорганізмів в 1 мл препарату визначали за кількістю колоній, що виростили на поживних середовищах, враховуючи ступінь розведення.

Випробування на окремі види мікроорганізмів проводили також методом мембранної фільтрації. Фільтр, призначений для визначення наявності ентеробактерій, спочатку інкубували в середовищі Е (нагромаджувальний бульйон Мозеля для роду *Enterobacteriaceae*),

а потім пересівали на чашки Петрі з густим поживним середовищем F (із жовцю, глюкозою, кристалічним фіолетовим і нейтральним червоним). Забруднення ЛЗ бактеріями роду *Enterobacteriaceae* виявляється за характерним ростом грамнегативних паличок на поживному середовищі, ідентифікація яких проводиться за загальноприйнятими методиками. ЛЗ витримує випробування, якщо на поживних середовищах не виявлено росту грамнегативних неспоруючих паличок, що дають негативну оксидазну реакцію, ферментують глюкозу з утворенням кислоти (або кислоти та газу) і відновлюють нітрати у нітрити.

Для виявлення *S.aureus* фільтр інкубували в рідкому живильному середовищі А (соєво-казеїновий бульйон), а потім на густому поживному середовищі О (агар Байєрд-Паркера). При наявності стафілококу спостерігається характерний ріст чорних колоній грампозитивних коків, оточених прозорою зоною, ідентифікацію яких здійснюють за допомогою тесту на коагулазу і дезоксирибонуклеазу. ЛЗ витримує випробування, якщо на густому живильному середовищі О не виявлено росту описаних вище колоній або додаткові біохімічні тести дали негативний результат.

Для випробування на наявність *P.aeruginosa* після закінчення терміну інкубації в середовищі А робили пересів на чашку з густим поживним середовищем N (цетримідний агар). ЛЗ витримує випробування, якщо не виявлено росту мікроорганізмів на поживному середовищі. Якщо ріст грамнегативних паличок виявлено, роблять пересівання різних за морфологічними ознаками ізолюваних колоній на рідке поживне середовище, соєво-казеїновий бульйон та інкубують.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених досліджень представлено в табл.1.

Дані, наведені в табл. 1, свідчать про відсутність мікроорганізмів у процесі зберігання зразків. Експериментально встановлено, що в усіх досліджуваних зразках протигрибкових розчинів при різних термінах зберігання не виявлено бактерій родини *Enterobacteriaceae*, а також не виявлено *S.aureus*, *P.aeruginosa*. Визначено, що загальна кількість бактерій та грибів у 1 мл досліджуваних розчинів не перевищує 10 КУО.

## ВИСНОВКИ

Розроблені протигрибкові розчини для зовнішнього застосування відповідають вимогам Державної фармакопеї України за показником «Мікробіологічна чистота».

## ЛІТЕРАТУРА

1. До проблеми місцевої терапії оніхомікозів / О.І.Зайченко, О.О.Ващенко, Т.Г.Калинюк, К.Ф.Ващенко // Український журнал дерматології, венерології, косметології. — 2008. — №3. — С. 84-86.
2. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. — Х.: ПІРЕГ, 2001. — Доп. 1. — 2004. — 520 с.
3. Роль тербинафину (Ламизила) в терапії оніхомікоза / Н.С.Потекаєв, Н.Н.Потекаєв, Н.Н.Климко [и др.] // Вестник дерматологии и венерологии — 2006. — №1. — С. 19-31.
4. Сергеев А.Ю. Грибковые инфекции: Руководство для врачей / А.Ю.Сергеев, Ю.В.Сергеев. — М.: Бинном-пресс, 2003. — 440 с.
5. Фармацевтична енциклопедія 2-ге вид. переробл. і доп. / Голова ред. ради та автор передмови В.П.Черних. — К.: Моріон, 2010. — 1632 с.

6. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship / Bignon-Ernest Amborabí, Pierrette Fleurat-Lessard, Jean-Francois Chollet, Gabriel Roblin // Plant Physiology and Biochemistry. — 2002. — Vol. 40, № 12. — P. 1051-1060.
7. Undecylenic acid for nail fungus [Electronic resource]. — Access mode: <http://toenail-fungus.org/medication/undecylenic-acid-for-nail-fungus.html>.

**О.А.Ващенко, Т.Г.Калинюк, И.М.Кушнир.**  
**Исследование микробиологической чистоты противогрибковых растворов. Львов, Украина.**

**Ключевые слова:** противогрибковый раствор, контроль качества, микробиологическая чистота.

В статье приведены результаты исследований микробиологической чистоты противогрибковых растворов для наружного применения, которые содержат ундециленовую и салициловую кислоты (раствор 1), тербинафина гидрохлорид и салициловую кислоту (раствор 2). Установлено, что разработанные лекарственные средства (как свежеприготовленные, так и образцы, хранившиеся в течение 12 и 24 месяцев) отвечают требованиям Государственной фармакопеи Украины (категория 2).

**O.O.Vashchenko, T.H.Kalynyuk, I.M.Kushnir.**  
**Microbiological purity assessment of antifungal solutions. Lviv, Ukraine.**

**Key words:** antifungal solution, quality control, microbiological purity.

In the article the results of microbiological purity assessment of antifungal solutions for cutaneous application, which contain undecylenic and salicylic acids (solution 1), and terbinafine hydrochloride and salicylic acid (solution 2), are reported. It has been determined that developed medical preparations (both just prepared samples, and samples that have been stored for 12 and 24 months) meet the requirements of State Pharmacopoeia of Ukraine (category 2).

Надійшла до редакції 16.08.2012 р.