Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дроговоз

УДК 615.453.2:579:582.46:581.45

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБНОЇ КОНТАМІНАЦІЇ ПОРОШКУ ЛИСТЯ ГІНКГО ДВОЛОПАТЕВОГО ТА ГРАНУЛ НА ЙОГО ОСНОВІ

Ю.В.Щирова, І.Л.Дикий, О.Г.Гейдеріх,
О.П.Бескорсий, В.В.Гладкий, В.А.Іващенко

Національний фармацевтичний університет
Фізико-технічний інститут низьких температур НАН України
Харківський національний університет ім. В.Н.Каразіна

Наведені результати дослідження мікробної контамінації порошку листя гінкго дволопатевого та гранул на його основі. Результати досліджень показали можливість застосування радіаційної стерилізації для зниження мікробної контамінації порошку листя гінкго дволопатевого та гранул на його основі. Дані цієї роботи будуть використані при розробці препарату на основі порошку листя гінкго дволопатевого.

Останнім часом велика увага приділяється розробці препаратів на основі нативної лікарської рослинної сировини (ЛРС) [6, 11]. Однак, враховуючи те, що рослинна сировина піддана мікробній контамінації, виникає певний ряд труднощів, пов'язаних зі стерилізацією ЛРС. У фармацевтичній технології широко застосовуються термічні методи деконтамінації. Однак, у своєму складі рослинні препарати містять термолабільні та світлочутливі речовини, тому звичайна термічна та УФ-стерилізація може призвести до зміни хімічного складу препарату [4, 5].

Обробка препаратів наднизькими температурами також може знизити мікробне забруднення. Однак цей метод менш ефективний, ніж термічна стерилізація [6, 5].

Перспективним методом зниження мікробної контамінації лікарських засобів є опромінювання препарату, сировини та допоміжних речовин невеликими кількостями іонізуючого випромінювання. Крім того, цей метод дозволяє стерилізувати термолабільні речовини та матеріали, оброблювати препарат безпосередньо в упаковці зі скла або пластмаси [8, 9, 10].

У зв'язку з введенням фармакопейних норм допустимої мікробіологічної контамінації на нестерильні лікарські засоби нами було проведено визначення мікробіологічної забрудненості порошку листя гінкго дволопатевого та гранул на його основі, а також визначено вплив різних методів стерилізації на цю характеристику.

Матеріали та методи

За об'єкт досліджень було обрано порошок листя гінкго дволопатевого, зібраного протягом періоду вегетації на території ботанічного саду Харківського національного університету. На мікробну контамінацію перевірялись зразки порошку без стерилізаційної обробки, подрібнені на кріоподрібнювачі та стерилізовані радіаційним опроміненням 20 і 32 кГр. На основі обраних порошків були виготовлені гранули [3, 7, 12, 13].

Визначення мікробної чистоти порошків та гранул проводили загальноприйнятим у мікробіологічній практиці методом [1, 2].

Зразки порошків та гранул у кількості 10 г розчиняли, суспендирували у фосфатному буферному розчині pH = 7,0 таким чином, щоб кінцевий об'єм суспензії був 100 мл.

Дослідження проводили двошаровим агаровим методом у чашках Петрі діаметром 90-100 мл. Засіви переглядали щоденно.

Визначення загального числа бактерій

Приготовлений розчин (суспензію) зразка вносять по 1 мл в кожну з двох пробірок з 4 мл розплавленого та охолодженого до температури від 45 до 50°С середовища №1 (приготовленого згідно з вимогами ДФУ). Швидко перемішують вміст пробірки і переносять у чашку Петрі, яка вміщує 15-20 мл загуслого поживного середовища №1. Швидким колиханням чашки Петрі рівномірно розподіляють верхній шар агару. Після застигання середовища чашки перевертають і інкубують протягом 5 діб при температурі від 30-35°С. Через 48 годин та остаточно через 5 діб підраховують число бактеріальних колоній на двох чашках, знаходять середнє значення і, помножуючи його показник на розведення, вираховують число бактерій в 1 г зразка.

Визначення загального числа грибів

Випробування проводять двошаровим агаровим методом, викладеним вище, з використанням середовища №2. Засіви інкубують протягом 5 діб

Таблиця 1

Дослідження мікробіологічної чистоти порошку листя гінкго дволопатевого

Зразок порошку листя гінкго	Розведення	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату		Наявність бактерій родини		
		бактерій	грибів	Enterobacteriaceae	S. Aureus	P. Aeruginosa
Норми		не більше 1000	не більше 100	недопустимі	недопустимі	недопустимі
Без стерилізаційної обробки	1:10	більше 1000	більше 100	відсутні	відсутні	відсутні
Кріоподрібнення	1:10	більше 1000	більше 100	відсутні	відсутні	відсутні
Радіаційна стерилізація, 20 кГр	1:10	менше 10	менше 10	відсутні	відсутні	відсутні
Радіаційна стерилізація, 32 кГр	1:10	10	20	відсутні	відсутні	відсутні

Таблиця 2

Зразки гранул, досліджених на мікробіологічну контамінацію

Склад гранул, г	Зразок	
	радіаційна стерилізація, 20 Гр	радіаційна стерилізація, 32 Гр
Порошок листя гінкго — 30 Крохмаль картопляний — 5	№1	№2
Порошок листя гінкго — 30 ПВП 25% — 7,5	№3	№4

при температурі від 20 до 25°С. Через 72 години і остаточно через 5 діб підраховують загальну кількість колоній дріжджових, плісневих грибів на двох чашках, знаходять середнє значення і, помножуючи його на показник розведення, тобто на 10, вираховують число грибів в 1 г зразка.

Виділення та ідентифікацію родин Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa та Staphylococcus aureus визначають також використовуючи методи та поживні середовища, наведені у ДФУ.

Результати та їх обговорення

Вміст мікроорганізмів у сировині залежить від її походження, умов обробки, особливо якщо був контакт з грунтом, повітрям та водою. ЛРС, свіжа або висушена, містить різні види мікроорганізмів. У висушеному стані вона має більшу гігроскопічність та легко вбирає в себе вологу, завдяки чому стає сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів, особливо грибів. Під впливом фітопатогенних та сапрофітних бактерій зменшується кількість біологічно активних речовин ЛРС. У результаті цього якість сировини значно знижується.

Результати контролю мікробної контамінації порошків листя гінкго дволопатевого наведені у табл. 1.

Порошок листя гінкго дволопатевого без стерилізаційної обробки не може застосовуватись для виробництва лікарських засобів, так як містить більше 1000 бактерій та 100 грибів, що не відповідає вимогам ДФУ до мікробної чистоти лікарських препаратів.

Кількість бактерій та грибів у кріоподрібненому порошку також перевищувала вимоги НТД. Однак мікробна забрудненість такого зразка була у 2 рази меншою, ніж у порошку без стерилізаційної обробки.

У зразках листя гінкго, опромінених іонізуючим опроміненням (20 кГр), кількість бактерій та грибів була менше 10. При стерилізації іонізуючим опроміненням (32 кГр) кількість бактерій була 10, а грибів — 20. Обидва зразки відповідали вимогам ДФУ до мікробіологічної чистоти нестерильних лікарських засобів.

Допоміжні речовини чинять безпосередній вплив на мікробіологічну чистоту лікарської форми і можуть як посилювати, так і знижувати її.

Таблиця 3

Дослідження мікробіологічної чистоти гранул на основі порошку листя гінкго дволопатевого

Зразок гранул (згідно з табл. 2)	Розведення	Загальна кількість мікроорганізмів в 1 г препарату		Наявність бактерій родини		
		бактерій	грибів	Enterobacteriaceae	S. Aureus	P. Aeruginosa
Норми		не більше 1000	не більше 100	недопустимі	недопустимі	недопустимі
№1	1:10	40	75	відсутні	відсутні	відсутні
№2	1:10	45	70	відсутні	відсутні	відсутні
№3	1:10	більше 1000	більше 100	відсутні	відсутні	відсутні
№4	1:10	більше 1000	більше 100	відсутні	відсутні	відсутні

Стерилізовані порошки листя гінкго були використані для виготовлення гранул; як зв'язуючі розчини використовували крохмальний клейстер 5% та розчин полівінілпіролідону (ПВП) 25% при співвідношенні маси сировини до об'єму зв'язуючого 1:1 (табл. 2). Грануляція проводилась на лабораторному грануляторі через пробивне сито №40.

Результати дослідження мікробної контамінації гранул наведені у табл. 3. Як показали результати досліджень, у обох зразках гранул з 25% розчином ПВП кількість бактерій та грибів перевищувала вимоги, регламентовані ДФУ. Гранули з 5% крохмальним клейстером витримували випробування на мікробіологічну чистоту незалежно від дози опромінення.

Таким чином, на основі проведених досліджень можна зробити висновок, що опромінення гамма-випромінюванням (20 кГр) достатньо для отримання порошку листя гінкго дволопатевого та гранул на його основі, які відповідатимуть вимогам ДФУ до мікробіологічної чистоти лікарських засобів.

ВИСНОВКИ

1. Було проведене дослідження мікробної контамінації порошку листя гінкго дволопатевого та гранул на його основі.
2. Результати досліджень показали можливість застосування радіаційної стерилізації для зниження мікробної контамінації порошку листя гінкго дволопатевого та гранул на його основі.
3. Дані цієї роботи будуть використані при розробці препарату на основі порошку листя гінкго дволопатевого.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Государственная фармакопея СССР. — XI изд., вып. 2. — М.: Медицина, 1989. — 400 с.*
2. *Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001, — 556 с.*
3. *Жогло Ф., Возняк В., Попович В., Богдан Я. Допоміжні речовини та їх застосування в технології лікарських форм — Львів: Центр Європи, 1996. — 87 с.*
4. *Каграманова К.А., Кивман Г.Я., Шуб Т.А. Проблемы микробиологической чистоты отечественных нестерильных лекарственных средств: обзорн. инф. — М., 1991. — Вып. 3. — 25 с.*
5. *Мублит В.Я., Тельрозе В.П., Трофимов В.И. Термоинактивация микроорганизмов. — М.: Медицина, 1985. — 247 с.*
6. *Технология и стандартизация лекарств. ГНЦЛС, Госкоммедбиопром. Сбор. науч. тр., том 1, 2. — Х.: РІРЕГ, 1996. — 784 с.*
7. *Щирова Ю.В., Дем'яненко В.Г. // Вісник фармації. — 2001. — №1 (29). — С. 28-29.*
8. *Brinston R.M. // Int. J. Radiat. Appl. Instrum. Pt C. Radiat. Phys. Chem. — 1990. — Vol. 35, №1-3. — P. 390-392.*
9. *Gopal N.G.S., Patel K.M., Gharma G. // Radiat. Phys. Chem. — 1988. — Vol. 32, №4. — P. 619-622.*
10. *Mayo M.S., Schlitzer R.L., Ward M.A. // J. Clin. Microbiol. — 1987. — Vol. 25, №8. — P. 1380-1400.*
11. *Noritaka Seko, Hisakzu Sunada, Akinobu Otsuka // Chem. Pharm. Bull. — 1993. — Vol. 41 (5). — P. 937-941.*
12. *Puglisi L., Salvadori S., Gabrielli G. Pasargiklian // Pharmacol. Res. Commun. — 1988. — Vol. 20, №7. — P. 573-589.*
13. *Xiaman Li, Hisakzu Sunada, Yoriobu Yonezawa, Noboru Matsui // Yakuzaigaku. — 1993. — Vol. 53. — P. 63-69.*

УДК 615.453.2:579:582.46:581.45

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПОРОШКА ЛИСТЬЕВ ГИНКГО ДВУЛОПАСТНОГО И ГРАНУЛ НА ЕГО ОСНОВЕ

Ю.В.Щирова, И.Л.Дикий, О.Г.Гейдерих, А.П.Бескорсий, В.В.Гладкий, В.А.Иващенко

Приведены результаты исследования микробной контаминации порошка листьев гинкго двулопастного и гранул на его основе. Результаты исследований показали возможность использования радиационной стерилизации для снижения микробной контаминации порошка листьев гинкго двулопастного и гранул на его основе. Данные этой работы будут использованы при разработке препарата на основе порошка листьев гинкго двулопастного.

UDC 615.453.2:579:582.46:581.45

RESEARCH OF MICROBIAL CONTAMINATION OF GINKGO BILOBA LEAVES POWDER AND GRANULES ON ITS BASIS

Yu.V.Shchirova, I.L.Dikiy, O.G.Geyderikh, O.P.Beskorsy, V.V.Gladky, V.A.Ivashchenko

This article deals with the research of microbial contamination of ginkgo biloba leaves powder and granules on its basis. The results of investigation have shown the possibility of radiative sterilization usage for decreasing of microbial contamination of ginkgo biloba leaves powder and granules on its basis. Data from this work will be used for elaboration of a drug on the basis of ginkgo biloba leaves powder.