

УДК 615.26:578.81

Л. С. Стрельников, В. А. Іванов, О. П. Стрілець, М. М. Ткач
*Національний фармацевтичний університет***МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
ВИБОРУ ГЕЛЕУТВОРЮВАЧА ДЛЯ
СТВОРЕННЯ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ
ФОРМИ З КОМПЛЕКСОМ БАКТЕРІОФАГІВ**

Досліджено антимікробну активність гелів з комплексом бактеріофагів на основі карбополів марок Ultrez 10, Ultrez 20, ETD 2020, ETD 2050. Активність гелів визначалася за методом Апелльмана та методом дифузії в агар відносно тест-штамів Staphylococcus aureus та Pseudomonas aeruginosa. Усі досліджені марки карбополів суттєво не вплинули на титр бактеріофагів, але значно підвищили їх здатність до дифузії. За результатами досліджень встановлено, що карбопол марки ETD 2020 є найбільш оптимальним для виготовлення гелю з комплексом бактеріофагів.

Ключові слова: карбопол; гель; комплекс бактеріофагів; методи Апелльмана; дифузії в агар

ВСТУП

На сьогодні дуже актуальною проблемою є резистентність мікроорганізмів при місцевій антимікробній терапії гнійно-запальних процесів шкіри. Одним із найбільш перспективних методів боротьби з даною проблемою є фаготерапія. Бактеріофаги мають високу антимікробну активність, не викликають розвиток резистентності та мають низький рівень побічних реакцій. Оскільки збудниками запальних процесів шкіри є одразу декілька штамів, то більш перспективним може бути застосування комплексу бактеріофагів [1]. Сучасний фармацевтичний ринок пропонує подібний комплекс для місцевого застосування лише у вигляді розчину. Однак для зручності застосування у медичній практиці, наприклад, у дерматології, гнійній хірургії та комбустіології, оптимальною вважається м'яка лікарська форма (ЛФ), яка б містила даний комплекс бактеріофагів [5].

Найбільш перспективною є м'яка лікарська форма з комплексом бактеріофагів у вигляді гелю на основі карбополів. Це обумовлено здатністю таких гелів підвищувати дифузійну активність бактеріофагів і, таким чином, збільшувати антимікробну активність препарату [2]. Крім того, використання карбополів у виробництві м'яких ЛФ

виправдане з технологічної точки зору: зручне, неенергоємне та маловитратне. Гелі на основі карбополів не викликають подразнюючої дії на шкіру і слизові оболонки, що дозволяє використовувати їх в технології м'яких ЛФ [7]. Препарати на основі карбополів мають добрі споживчі характеристики: легко наносяться на шкіру, рівномірно розподіляються на її поверхні, не перешкоджають газообміну шкіри і не порушують діяльність сально-фолікулярного апарату [2, 5].

На сьогоднішній день на ринку України існує багато марок карбополів для промислового виробництва м'яких ЛФ. Тому постає питання вибору та обґрунтування типу карбополу, на основі якого гель з комплексом бактеріофагів буде мати оптимальні властивості [4]. Основним критерієм вибору гелеутворювача є антимікробна активність готового продукту. Метою даної роботи було мікробіологічне обґрунтування типу та концентрації карбополу для створення гелю з комплексом бактеріофагів для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Комплекс бактеріофагів під торговою назвою «Секстафаг» (ФСП 42–0504401304), виробник — «Микроген» (Росія). «Секстафаг» являє собою прозору рідину жовтого кольору різної інтенсивності забарвлення, що містить стерильний фільтрат фаголізатів стафілококів, стрептококів,

© Л. С. Стрельников, В. А. Іванов, О. П. Стрілець,
М. М. Ткач, 2010

протею, клебсієли, синьогнійної та кишкової паличок, здатних лізувати відповідні штами мікроорганізмів. Призначений для профілактики та лікування гнійно-запальних процесів різного генезу.

Карбопол Ultrez 10 (Lubrizol, США) — згущувач для прозорих гелів, здатний до самостійного диспергування, порошок, ефективно утворює гелі у концентраціях 0,2–1 %.

Карбопол Ultrez 20 (Lubrizol, США) — згущувач для систем з високим вмістом електролітів, рецептур з відносно низькою в'язкістю і текучою реологією, спиртовмісних систем, здатний до самостійного диспергування порошок, покращує сенсоріку композиції, ефективно утворює гелі у концентраціях 0,2–1 %.

Карбопол ETD 2020 (Lubrizol, США) — згущувач для систем з низьким вмістом поверхнево-активних речовин і рецептур з відносно низькою в'язкістю, ефективно утворює гелі у концентраціях 1–4 %.

Карбопол ETD 2050 (Lubrizol, США) — універсальний згущувач, ефективно створює гелі у концентраціях 1–4 %.

У роботі вивчено антимікробну активність гелів з комплексом бактеріофагів. Для дослідження було обрано мінімальну, середню та максимальну концентрації карбополів, рекомендованих у специфікаціях. Гелі на основі Ultrez 10 та Ultrez 20 виготовлено з концентрацією карбополів 0,2 %, 0,6 % та 1 % відповідно. А гелі на основі ETD 2020 та ETD 2050—1 %, 2,5 % та 4 %. Всі карбополи, що досліджувались, нейтралізували 10 % розчином натрію гідроксиду до значення pH 7 + 0,5.

Активність отриманих зразків визначалася за методом Аппельмана, який полягає у визна-

ченні максимального ступеня десятикратного розведення, при якому відбувається лізис тест-культури. Також для дослідження антимікробної активності гелів був використаний метод дифузії в агар (метод «колодязів»), оскільки даний метод є найбільш поширеним для дослідження антимікробної активності м'яких лікарських форм. Метод полягає у дифузії діючої речовини крізь товщу агару, викликаючи затримку росту тест-культури [3].

Відокремлюване гнійно-запальних ран найбільш часто містить стафілококи (майже в 75 % випадків), дещо рідше — синьогнійну паличку (близько 50 %) і значно рідше інші мікроорганізми [6]. Тому в якості тест-культур були використані еталонні штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, оскільки саме ці мікроорганізми є найчастішими збудниками гнійно-запальних захворювань шкіри.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Першим етапом досліджень було вивчення активності гелів з комплексом бактеріофагів за методом Аппельмана. Для цього були виготовлені зразки гелів, які містили в якості структуроутворювачів карбополи в наступних концентраціях: Ultrez 10—0,6 %, Ultrez 20—0,6 %, ETD 2020—2,5 %, ETD 2050—2,5 %. Зазначені концентрації були обрані як середні згідно зі специфікаціями відповідних карбополів. Отримані дисперсії нейтралізували 10 % розчином натрію гідроксиду. Визначення антимікробної активності проведено за методом Аппельмана відносно зазначених штамів. В якості контролю використано розчин комплексу бактеріофага «Секстафаг».

Таблиця 1

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЗРАЗКІВ ЗА МЕТОДОМ АППЕЛЬМАНА

Зразок	Тест-культура	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Розчин «Секстафаг» (контроль)	$10^{-5,0 \pm 0,3}$	$10^{-4,7 \pm 0,2}$
Ultrez 10	$10^{-4,7 \pm 0,3}$	$10^{-4,5 \pm 0,3}$
Ultrez 20	$10^{-5,2 \pm 0,3}$	$10^{-4,3 \pm 0,2}$
ETD 2020	$10^{-5,2 \pm 0,3}$	$10^{-4,4 \pm 0,3}$
ETD 2050	$10^{-5,0 \pm 0,5}$	$10^{-4,5 \pm 0,1}$

Примітка: n=6, P=95

Отримані дані, представлені в табл. 1, свідчать, що антимікробна активність за Аппельманом усіх отриманих зразків гелю суттєво не відрізняється від активності вихідного розчину комплексу бактеріофагів. Це означає, що всі досліджувані марки карбополів практично не впливають на титр бактеріофагів, тобто отримані гелі містять однакову з вихідною субстанцією (розчином) кількість стафілококових та синьогнійних віріонів бактеріофагів.

Наступним етапом досліджень стало вивчення активності гелів методом дифузії в агар. Для цього були виготовлені зразки гелів з комплексом бактеріофагів з наступними концентраціями карбополів: Ultrez 10 та Ultrez 20—0,2%, 0,6% та 1%, ETD 2020 та ETD 2050—1%, 2,5% та 4%. Нейтралізували 10% розчином натрію гідроксиду. В якості контролю використано розчин комплексу бактеріофага «Секстафаг».

Отримані дані, представлені в табл. 2, свідчать, що всі гелі з комплексом бактеріофага мали зони затримки росту більше, ніж вихідна речовина — розчин «Секстафаг» (контроль). Найменшу антимікробну активність відносно досліджуваних культур виявили гелі з карбополами Ultrez 10 та ETD 2050, дещо більшу — Ultrez 20. Гелі виготовлені на основі карбополу марки ETD 2020 мали найбільшу антимікробну

активність. Слід зауважити, що концентрація карбополу ETD 2020 1% приводила до утворення гелю з найвищою антимікробною активністю. Кратність підвищення дифузійної активності даного зразка у порівнянні з розчином становила 1,64 для *S. aureus* та 1,52 для *P. aeruginosa*.

Отже, всі досліджені марки карбополів здатні утворювати гелі з комплексом бактеріофагів і можуть бути використані для подальших досліджень зі створення м'якої лікарської форми із бактеріофагами. Проте найбільш перспективним можна вважати карбопол ETD 2020, оскільки зразок на його основі проявив найбільшу антимікробну активність за методом дифузії в агар.

ВИСНОВКИ

1. Карбополи марок Ultrez 10, Ultrez 20, ETD 2020, ETD 2050 не впливають на вихідну антимікробну активність бактеріофагів за методом Аппельмана відносно тест-штамів *S. aureus* та *P. aeruginosa*.
2. Усі досліджені марки карбополів при утворенні гелів з комплексом бактеріофагів підвищували дифузійну активність фагів відносно тест-культур *S. aureus* та *P. aeruginosa*.
3. Зразки гелів на основі карбополу марки ETD 2020 у концентрації 1% проявили найбільш

Таблиця 2

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ЗРАЗКІВ МЕТОДОМ ДИФУЗІЇ В АГАР

Зразок	Вміст карбополу, %	<i>S. aureus</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		діаметр зон затримки росту, мм	кратність підвищення дифузійної активності	діаметр зон затримки росту, мм	кратність підвищення дифузійної активності
Розчин «Секстафаг» (контроль)		17,7±0,7	1	14,3±0,4	1
Ultrez 10	0,2	21,7±0,8	1,22	18,5±0,8	1,29
	0,6	21,2±0,7	1,20	17,8±0,6	1,24
	1	20,7±0,7	1,17	17,2±0,6	1,20
Ultrez 20	0,2	22,6±0,7	1,28	18,5±0,5	1,29
	0,6	22,1±0,4	1,25	17,9±0,7	1,25
	1	21,8±0,6	1,23	18,2±0,6	1,27
ETD 2020	1	29,0±0,7	1,64	21,8±0,8	1,52
	2,5	27,5±0,6	1,55	19,1±0,6	1,34
	4	25,3±0,5	1,43	18,0±0,7	1,26
ETD 2050	1	21,7±0,7	1,23	17,8±0,6	1,24
	2,5	18,2±0,5	1,03	15,8±0,4	1,10
	4	17,9±0,8	1,01	14,9±0,8	1,05

Примітка: n=6, P=95.

шу антимікробну активність за методом дифузії в агар відносно тест-культур *S. aureus* та *P. aeruginosa*.

4. Карбопол марки ETD 2020 є найбільш перспективним для подальших досліджень із розробки гелю з комплексом бактеріофагів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аливадзе З. И. Бактериофаги для лечения и профилактики гнойно-септических инфекций / [З. И. Аливадзе, Т. Г. Чанишвили, В. А. Булавков, Л. К. Дзидзшивили и др.] // Госпит. эпидемиол.: сб. науч. труд. — Л., 1989. — С. 92–94.
2. Башура О. Г. Перспективи використання карбополів у технології косметичних і лікарських гелів / О. Г. Башура, Є. В. Гладох, І. І. Баранова, Н. П. Кисельова // Вісник фармації. — 1999. — № 2 (20). Спецвип. — С. 73–76.
3. Державна фармакопея України/Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-ше вид., допов. 1. — Х.: РІРЕГ, 2001. — С. 556.
4. Ляпунов Н. А. Виробництво м'яких лікарських форм в Україні / Н. А. Ляпунов, О. П. Безугла // Ліки України. — 1997. — № 2. — С. 22–25.
5. Марченко Л. Г., Русак А. В., Смехова И. Е. Технология мягких лекарственных форм: [учеб. пособ.] / Под ред. проф. Л. Г. Марченко. — С.Пб.: Спец. лит., 2004. — С. 74–82.
6. Спиридонова Т. Г. Консервативное лечение ожоговых ран / Т. Г. Спиридонова // Рус. мед. журн. — 2001. — № 13–14. — С. 560.
7. Ткач М. М. Розробка складу і технології м'якої лікарської форми з бактеріофагом стафілококовим. Повідомлення 1. Вивчення впливу допоміжних речовин на активність бактеріофага стафілококового / М. М. Ткач, Л. С. Стрельников, Г. І. Кабачний // Запорожский мед. журн. — 2008. — № 4. — С. 144–146.

УДК 615.26:578.81

Л. С. Стрельников, В. А. Иванов, О. П. Стрилец, М. Н. Ткач

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛЯ ДЛЯ СОЗДАНИЯ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С КОМПЛЕКСОМ БАКТЕРИОФАГОВ

Исследована противомикробная активность гелей с комплексом бактериофагов на основе карбополов марок Ultrez 10, Ultrez 20, ETD 2020, ETD 2050. Активность гелей определялась по методу Аппельмана и методом диффузии в агар в отношении тест-штаммов *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Все исследованные марки карбополов существенно не повлияли на титр бактериофагов, но значительно повысили их способность к диффузии. Карбопол марки ETD 2020 является наиболее оптимальным для изготовления геля с комплексом бактериофагов.

Ключевые слова: карбопол; гель; комплекс бактериофагов; методы Аппельмана; диффузии в агар

UDC 615.26:578.81

L. S. Strelnikov, V. A. Ivanov, O. P. Strilets, M. M. Tkach

MICROBIOLOGICAL GROUNDING CHOICE OF GEL FOR CREATING MEDICINE WITH A COMPLEX BACTERIOPHAGES

The antimicrobial activity of gels with a complex bacteriophages containing carbopol brands as Ultrez 10, Ultrez 1920, ETD 2020, ETD 2050 has been investigated. Gel activities have been determined by the Appelman's method and the method of diffusion in the layer of agar against strains of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. All the studied carbopol brands do not significantly affect the titer of bacteriophages, but significantly increase diffusion activities of bacteriophages. Carbopol ETD 2020 is the most optimal for creating a gel with a complex bacteriophages.

Key words: carbopol; gel; complex bacteriophages; Appelman's method; the method of diffusion in the layer of agar

Адреса для листування:

61002 м.Харків, вул. Мельникова, 12

Тел. (057) 706-47-87

e-mail: biotech_ukrfa@mail.ru

Надійшла до редакції:

09.12.2010