

МІКРОБІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ З ВИБОРУ КОНСЕРВАНТУ І ЙОГО КОНЦЕНТРАЦІЇ ПРИ СТВОРЕННІ ПЕРОРАЛЬНОГО ВІТАМІННОГО ГЕЛЮ ДЛЯ ДІТЕЙ

С.М.Запорожська, О.П.Стрілець, І.М.Грубник

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: консервант; вітамінний гель для дітей

На підставі проведених порівняльних мікробіологічних досліджень з вибору консерванту серед тих, які використовуються у приготуванні лікарських форм, а саме: кислоти сорбінової, ефіри п-оксибензойної кислоти (ніпагін, ніпазол), кислоти бензойної та ін., було вивчено антимікробну ефективність даних консервантів у концентрації 0,1%. Усі використані у гелі консерванти володіють антимікробною активністю: через 14 діб дослідження Lg зменшення вихідного мікробного навантаження для бактерій складало не менше 3, а для грибів — не менше 1; через 28 діб після обсіменіння у деяких зразках спостерігалося збільшення колонієутворюючих одиниць тест-мікроорганізмів, які використовуються. Результати експерименту свідчать про ефективну антимікробну активність консерванту кислоти сорбінової на протязі всього терміну дослідження. На підставі результатів дослідження обгрунтовано вибір консерванту — кислоти сорбінової у концентрації 0,1% у складі перорального вітамінного гелю для дітей як найбільш ефективного.

Важливе місце при оцінці якості лікарських засобів посідає мікробіологічний контроль. Забрудненість мікроорганізмами у процесі виробництва, зберігання чи використання може призвести як до видимої втрати стабільності засобу (розшарування, утворення цвілі), так і до зниження терапевтичної ефективності препарату без наявних візуальних змін [3, 4].

У виробництві ліків для дітей рекомендується використовувати природні допоміжні речовини, які відрізняються своєю біологічною нешкідливістю, але разом з тим допоміжні речовини підлягають високій мікробній контамінації [4].

Додавання консервантів може у значній мірі знизити мікробну обсіменінність дитячих ліків. Однак до вибору консервантів та їх концентрації необхідно підходити дуже ретельно. Оскільки консерванти є біологічно активними речовинами і володіють широким

спектром дії, вони легко можуть втрутитися у життєдіяльність клітин організму дитини, блокуючи різні ферменти, змінюючи процес поділу клітини, змінюючи проникність клітинної мембрани та ін. Крім того, консерванти згідно з біофармацевтичними дослідженнями є активними хімічними речовинами, які здатні вступати у різноманітні реакції з будь-якими компонентами ліків [4, 6, 7, 8].

Провівши попередній патентний пошук, ми обрали наступні консерванти, які застосовуються у виробництві дитячих лікарських форм: кислоту сорбінову, ефіри п-оксибензойної кислоти (ніпагін, ніпазол), натрію бензоат [2, 6, 5].

Ефективність конкретного консерванту неоднакова по відношенню до цвілевих грибів, дріжджів та бактерій, тобто він не може бути ефективним проти всього спектра імовірних збудників псування лікарських препаратів.

Саме тому з метою вибору ефективного консерванту, який забезпечить якість і безпечність вітамінного гелю для дітей на протязі усього часу використання, для аналізу були виготовлені зразки гелів з різною концентрацією вищезазначених консервантів:

- зразок №1 (ніпагін : ніпазол 1:3 — 0,2%)
- зразок №2 (ніпагін : ніпазол 1:3 — 0,1%)
- зразок №3 (натрію бензоат — 0,2%)
- зразок №4 (натрію бензоат — 0,1%)
- зразок №5 (кислота сорбінова — 0,2%)
- зразок №6 (кислота сорбінова — 0,1%)

Матеріали та методи

При дослідженнях використовували методику оцінки ефективності антимікробних консервантів, наведену в ДФУ (п. 5.1.3, стор. 301). Принцип методу полягає у тому, що в зразки готового вітамінного гелю з різними

Таблиця 1

**Антимікробна активність консервантів (ніпагін : ніпазол)
у досліджуваних зразках вітамінного гелю**

Тест-культури	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження			
		зразок №1		зразок №2	
		14 діб	28 діб	14 діб	28 діб
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,00	3,30	Не спостерігається збільшення КУО	3,0	Не спостерігається збільшення КУО
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,99	3,03	Не спостерігається збільшення КУО	2,60	Не спостерігається збільшення КУО
<i>Escherichia coli</i>	5,00	3,15	Не спостерігається збільшення КУО	3,04	Не спостерігається збільшення КУО
<i>Candida albicans</i>	4,98	1,84	Не спостерігається збільшення КУО	1,80	Не спостерігається збільшення КУО
<i>Aspergillus niger</i>	4,99	1,78	Не спостерігається збільшення КУО	0,02	Спостерігається збільшення КУО

консервантами, які знаходяться у первинній упаковці, вносять певну кількість тест-мікроорганізмів і зберігають дані зразки при певній температурі у темному місці. Через визначені проміжки часу (засоби для перорального застосування — 14 діб і 28 діб) із обсіменених зразків відбирають проби і визначають число мікроорганізмів [1].

В якості тест-мікроорганізмів використовували *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Escherichia coli* ATCC 8739 [1].

Для приготування культур тест-мікроорганізмів робили посіви бактерій на поверхню щільного поживного середовища В, у випадку посіву грибів використовували поживне середовище С без додавання антибіотиків. Культури бактерій, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* і *Escherichia coli* інкубували при температурі 20-25°C у захищеному від світла місці. З кожного зразка відбирали проби — 1 мл зразу після обсіменіння і потім через певні інтервали часу (14 діб і 28 діб) кількість життєздатних мікроорганізмів визначали методом прямого посіву на чашки Петрі з щільним поживним середовищем. Результати оцінювали по Lg зменшення числа життєздатних мікроорганізмів [3]. Результати представлено у табл. 1-3.

Для приготування суспензій бактеріальних культур і культури *Candida albicans* мікробну масу змивали з поверхні поживного середовища стерильним суспензуючим розчином, що вміщує

9 г/л натрію хлориду Р і 1 г/л пептону, переносили у стерильну пробірку і доводили вміст мікроорганізмів до 10^8 у мл. При приготуванні суспензії культури *Aspergillus niger* використовували стерильний суспензуючий розчин, який містить 9 г/л натрію хлориду Р і 0,5 г/л полісорбату-80 Р₃ і доводили кількість спор до 10^8 у мл. З кожної суспензії зразу після її приготування відбирали пробу і визначали кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) у 1 мл кожної суспензії методом прямого посіву на чашки Петрі на щільні поживні середовища, які використовували для початкового вирощування тест-культур. Кожен зразок з досліджуваним гелем обсіменяли суспензією, яка містить тест-мікроорганізм з навантаженням 10^5 КУО в мл. Ретельно перемішували для рівномірного розподілення мікроорганізмів у зразку. Обсіменені зразки витримували при температурі 20-25°C у захищеному від світла місці. З кожного зразка відбирали проби — 1 мл зразу після обсіменіння і потім через певні інтервали часу (14 діб і 28 діб) кількість життєздатних мікроорганізмів визначали методом прямого посіву на чашки Петрі з щільним поживним середовищем. Результати оцінювали по Lg зменшення числа життєздатних мікроорганізмів [3]. Результати представлено у табл. 1-3.

Отримані результати свідчать, що всі використані у гелі консерванти володіють антимікробною активністю, так як у концентрації 0,2% вони усі відповідають вимогам ДФУ — через 14 діб дослідження Lg зменшення вихідного мікробного навантаження для бактерій склав не менше 3, а для грибів не менше 1; через 28 діб після обсіменіння у всіх зразках не спостерігалось збільшення колонієутворюючих одиниць усіх тест-мікроорганізмів, що використовувалися.

Також було вивчено антимікробну ефективність даних консервантів у концентрації 0,1%. Результати проведених досліджень (зразки 2, 4, 6) представлені в табл. 1-3, які свідчать про те, що композиція консервантів ніпагін:ніпазол 1:3 виявляє активність через 14 діб після обсіменіння у відношенні тест-культур бактерій *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli* у відношенні грибів *Candida albicans* і не відповідає вимогам ДФУ для засобів перорального застосування для тест-культур *Pseudomonas aeruginosa* і *Aspergillus niger* через 28 днів експерименту спостерігалось збільшення кількості КУО/мл тест-штаму *Aspergillus niger* у зразку гелю, що не відповідає вимогам.

Зразки вітамінного гелю, у складі яких у якості консерванту був натрію бензоат у концентрації 0,1%, повністю відповідають ви-

Таблиця 2

**Антимікробна активність консерванту (натрію бензоату)
у досліджуваних зразках вітамінного гелю**

Тест-культури	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження			
		зразок №3		зразок №4	
		14 діб	28 діб	14 діб	28 діб
Staphylococcus aureus	5,00	3,53	Не спостерігається збільшення КУО	3,52	Не спостерігається збільшення КУО
Pseudomonas aeruginosa	4,99	3,30	Не спостерігається збільшення КУО	3,06	Не спостерігається збільшення КУО
Escherichia coli	5,00	3,31	Не спостерігається збільшення КУО	3,22	Не спостерігається збільшення КУО
Candida albicans	4,98	1,92	Не спостерігається збільшення КУО	1,90	Не спостерігається збільшення КУО
Aspergillus niger	4,99	1,95	Не спостерігається збільшення КУО	1,87	Не спостерігається збільшення КУО

Таблиця 3

**Антимікробна активність консерванту (кислоти сорбінової)
у досліджуваних зразках вітамінного гелю**

Тест-культури	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження			
		зразок №5		зразок №6	
		14 діб	28 діб	14 діб	28 діб
Staphylococcus aureus	5,00	4,7	Не спостерігається збільшення КУО	3,52	Не спостерігається збільшення КУО
Pseudomonas aeruginosa	4,99	3,30	Не спостерігається збільшення КУО	3,22	Не спостерігається збільшення КУО
Escherichia coli	5,00	3,53	Не спостерігається збільшення КУО	3,31	Не спостерігається збільшення КУО
Candida albicans	4,98	2,28	Не спостерігається збільшення КУО	2,16	Не спостерігається збільшення КУО
Aspergillus niger	4,99	1,96	Не спостерігається збільшення КУО	1,92	Не спостерігається збільшення КУО

могам фармакопеї у відношенні усіх штамів мікроорганізмів через 14 діб і через 28 діб після обсіменіння, тому що на протязі усього періоду експерименту не спостерігалось збільшення кількості КУО в 1 мл гелю.

Дані табл. 3 (консервант кислота сорбінова 0,1%) також свідчать про ефективну антимікробну активність консерванту на

протязі всього терміну експерименту. Якщо порівнювати усі отримані дані, слід зробити висновок, що активними у концентрації 0,1% є консерванти натрію бензоат і кислота сорбінова, але серед цих двох консервантів більш активним є сорбінова кислота. Крім того відомо, що сорбінова кислота в силу своєї простої структури сама здатна ути-

лізуватися організмом дитини як джерело енергії.

ВИСНОВКИ

На підставі проведених мікробіологічних досліджень експериментально обґрунтовано вибір оптимального консерванту — кислоти сорбінової у концентрації 0,1% у складі перорального вітамінного гелю для дітей як найбільш ефективного.

ЛІТЕРАТУРА

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 301 с.
2. Люк Э., Ягер М. Консерванты в пищевой промышленности. — 3-е изд. / Пер. с нем. — С.Пб.: ГИОРД, 2003. — 256 с.

3. *Настанова 42-01-2001. Лікарські засоби. Належна виробнича практика.* — К.: МОЗ України, 2001. — 82 с.
4. *Перцев И.М., Зупанец И.А. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств.* — Х.: Изд-во УкрФА, 1999. — Т. 1. — С. 215-225.
5. *Практическая растровая электронная микроскопия / Под ред. Дж.Гоулдстейна, Х.Яковица; Пер. с англ. под ред. В.И.Петрова.* — М.: Изд-во “Мир”, 1978. — 656 с.
6. *Fleming G.A. //N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 282, №5. — P. 343.
7. *Hoegen P.H. //Pedyatr. Allergy Immunol.* — 2004. — Vol. 15, №5. — P. 474-477.
8. *Leung D.Y. //Curr. Opin. Pedyatr.* — 2003. — Vol. 15, №4. — P. 399-404.

Адреса для листування: 610168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (0572) 67-87-75.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 01.04.2009 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, який містить **кларитроміцин** (Антимікробні засоби для системного застосування. Макроліди та лінкозаміди. Код АТС J01F A09)

Хворому П. (37 років) з діагнозом гострий трахеобронхіт було призначено препарат, який містить кларитроміцин (перорально по 500 мг 3 рази на добу). На другу добу після початку застосування препарату, який містить кларитроміцин, у хворого з'явилися гостра кропив'янка, свербіж шкіри, нудота, головний біль. Препарат, який містить кларитроміцин, було відмінено, реакцію купірували за допомогою супрастину. Після проведеної терапії зазначені явища зникли без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Київського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України.