

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Факультет медико-фармацевтичних технологій
Кафедра біотехнології**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «ДОСЛІДЖЕННЯ ГІГІЄНИЧНОГО ДЕЗИНФІКУЮЧОГО
ЗАСОБУ ДЛЯ ШКІРИ, ЩО МІСТИТЬ ПРОБІОТИКИ»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи ПБтм24(1,6д)-01
спеціальності: 162 Біотехнології та біоінженерія
освітньої програми Промислової біотехнології
Руслан ГОРОЗ

Керівник: доцент закладу вищої освіти
кафедри біотехнології, к. фарм. н., с.н.с. Наталія ДВІНСЬКИХ

Рецензент: Начальник сектору технологічних досліджень
відділу фармацевтичної розробки ТОВ «БІОЛІК
ФАРМА» к.фарм.н., с.н.с. Сіденко Л.М.

АНОТАЦІЯ

Робота присвячена розробці рідкого мила для гігієнічної дезінфекції шкіри рук на основі пробіотичних спор *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* та постбіотика – лізату *Lactobacillus plantarum*. Досліджено антимікробну, антиоксидантну активність та стабільність (життєздатність) спор. Виявлено синергетичний ефект комбінації: ефективне пригнічення патогенів, зниження оксидативного стресу. Отримані результати підтверджують перспективність продукту як безпечної та екологічної альтернативи традиційним антисептикам для медичних закладів і щоденного використання. Робота складається з вступу, трьох розділів, висновку. Загальний обсяг роботи – 55 стор., кількість таблиць 15, рисунків 4, джерел літератури 33, додатків 1.

Ключові слова: гігієнічний засіб, рідке мило, пробіотик, постбіотик, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *L. plantarum*.

ANNOTATION

The work is dedicated to the development of a liquid soap for hygienic hand skin disinfection based on probiotic spores of *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, and a postbiotic – lysate of *Lactobacillus plantarum*. The antimicrobial and antioxidant activity, as well as the stability (viability) of the spores, were investigated. A synergistic effect of the combination was revealed: effective suppression of pathogens and reduction of oxidative stress. The obtained results confirm the promising potential of the product as a safe and eco-friendly alternative to traditional antiseptics for medical institutions and daily use. The work consists of an introduction, three sections, a conclusion. Total volume of work 55, number of tables 15, figures 4, sources of literature 33, appendices 1.

Key words: hygienic product, liquid soap, probiotic, postbiotic, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *L. plantarum*.

ЗМІСТ

Вступ.....	3
Розділ 1 Огляд літератури.....	7
1.1 Пробиотичні гігієнічні засоби як альтернатива хімічним дезінфікуючим засобам	7
1.2 Застосування пробиотиків для гігієни та покращання стану шкіри.	10
1.3 Аналіз штамів, що використовуються в пробиотичних засобах гігієни	12
1.4 Огляд пробиотиків роду <i>Bacillus</i> у засобах для гігієни шкіри	13
1.5 Огляд перспектив використання лактобактерій у засобах для гігієни шкіри.....	16
Висновок до I розділу	20
Розділ 2 Об'єкти та методи досліджень.....	21
2.1. Об'єкти досліджень	21
2.2. Методи досліджень.....	28
Висновок до 2 розділу.....	32
Розділ 3 Експериментальна частина.....	33
3.1 Підбір пробиотичного компонента для засобу для гігієни шкіри рук	33
3.2 Вибір складу засобу для гігієни шкіри рук на основі бактерій роду <i>Bacillus</i> та постбіотиків лактобактерій у вигляді рідкого мила.....	36
3.3 Приготування та контроль зразків рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands».....	38
3.4 Визначення антагоністичної активності пробиотичних компонентів проти патогенів.....	43
3.5 Оцінка життєздатності спор <i>Bacillus</i> під час зберігання	45
3.6 Визначення антиоксидантної активності лізату <i>L. plantarum</i>	46
3.7 Напрями подальших досліджень.....	49
3.8 Перспективи практичного використання рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands».....	51

Висновок до 3 розділу	52
Висновки.....	54
Список використаних джерел.....	56
Додаток. Публікації за темою роботи.....	61

ВСТУП

Актуальність теми. Сучасний рівень розвитку медицини та гігієни супроводжується стрімким зростанням антимікробної резистентності (AMR), що визнана Всесвітньою організацією охорони здоров'я однією з десяти найбільших загроз для людства до 2030 року. Традиційні хімічні дезінфікуючі засоби для шкіри рук (спиртовмісні санітайзери, хлоргексидин, триклозан) ефективно знищують патогени, але одночасно порушують природний мікробіом шкіри, спричиняють сухість, подразнення, дерматити та сприяють селекції резистентних штамів. У медичних закладах, де персонал здійснює 10–30 процедур миття рук на годину, частота професійних дерматозів сягає 20–40 %, а нозокоміальні інфекції залишаються провідною причиною смертності.

Пробіотичні та постбіотичні засоби відкривають новий біотехнологічний підхід до гігієни шкіри: замість тотального знищення мікрофлори вони забезпечують конкурентне виключення патогенів, підтримку корисних мікроорганізмів, відновлення бар'єрної функції та зменшення запалення. Особливий інтерес викликають спороутворюючі бактерії роду *Bacillus* (зокрема *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*) завдяки високій стійкості спор та здатності продукувати бактеріоцини, ферменти й антиоксиданти, а також постбіотики лактобактерій (зокрема лізат *L. plantarum*), що містять органічні кислоти, пептиди та супероксиддисмутазу.

Сучасність підкріплена постпандемійним попитом на безпечні засоби та концепцією «One Health», де пробіотики пов'язують гігієну з екологією мікробіому.

Розробка вітчизняного гігієнічного дезінфікуючого засобу для шкіри на основі пробіотиків є актуальною в контексті імпортозаміщення, зростання попиту на натуральні та мікробіом-дружні продукти, а також необхідності зниження навантаження на систему охорони здоров'я через профілактику інфекцій та професійних дерматозів. Дослідження спрямоване на створення

ефективного, безпечного та екологічного продукту, що відповідає сучасним вимогам біобезпеки та сталого розвитку.

Мета дослідження. Обґрунтування складу та розробка технології отримання рідкого мила для гігієнічної дезінфекції шкіри рук на основі пробіотичних спор *Bacillus subtilis* та *Bacillus amyloliquefaciens* та постбіотика - лізату *Lactobacillus plantarum*, дослідити життєздатність спор в складі засобу, його антагоністичну, антиоксидантну активність та підтвердити таким чином ефективність альтернативного традиційним хімічним засобам продукту.

Завдання дослідження:

- проаналізувати сучасні літературні дані щодо застосування пробіотиків і постбіотиків у засобах для гігієни, зокрема для шкіри рук, оцінити їх ефективність, безпеку та обмеження порівняно з традиційними хімічними дезінфікуючими засобами;
- обґрунтувати вибір пробіотичного комплексу комбінації спор бактерій роду *Bacillus* з лізатом лактобактерій на основі їх синергетичної дії, стійкості та відповідності вимогам безпеки (GRAS/QPS-статус);
- дослідити властивості та характеристики основних біоактивних компонентів, антимікробну, протизапальну та антиоксидантну активність, склад постбіотиків;
- запропонувати склад рідкого мила, підібрати допоміжні речовини (ПАР, консервант, регулятор рН, ароматизатор) з урахуванням сумісності з пробіотичними та постбіотичними компонентами;
- апробувати лабораторну технологію приготування мила, забезпечивши асептичні умови та контроль критичних параметрів (температура, рН, перемішування);
- визначити ключові показники якості продукту та встановити межі прийнятності;

- експериментально дослідити антагоністичну активність мила проти тест-патогенів (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*), стабільність спор *Bacillus* під час зберігання та антиоксидантну дію лізату;
- оцінити отримані результати, зробити висновки щодо ефективності, безпеки та перспективності розробленого засобу, визначити напрями подальших досліджень та можливі шляхи удосконалення складу.

Об'єкти дослідження: пробіотичні мікроорганізми *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens*, постбіотик - лізат *L. plantarum*, допоміжні речовини (іоногенні та неіоногенні ПАР, антимікробний консервант фенілетанол, ароматизатор олія чайного дерева), зразки рідкого мила для гігієни рук.

Предметом дослідження є склад та технологія отримання рідкого мила для гігієнічної дезінфекції шкіри рук на основі пробіотичних спор та постбіотика, життєздатність спор в складі засобу, його антагоністична та антиоксидантна активність.

Методи дослідження. систематичний пошук та аналіз джерел у наукометричних базах PubMed, Web of Science та ін. за ключовими словами. Методи дослідження зразків на антагоністичну активність мила (агар-дифузійний тест, метод лунок), життєздатності спор (метод підрахунку КУО) та антиоксидантну активності лізату (тест DPPH). Інструментальні методи: потенціометричний для визначення рН, спектрофотометричний для визначення оптичної густини.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати доводять перспективність створення ефективного, безпечного та екологічного засобу для гігієнічної дезінфекції шкіри рук – рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands». Запропонований пробіотично-постбіотичний комплекс (спори *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* та лізат *L. plantarum*) забезпечує синергетичну дію: швидке пригнічення патогенів, тривалий захист мікробіому, антиоксидантний та протизапальний ефект, що дозволяє зменшити сухість, подразнення та ризик професійних дерматозів у медичних працівників. Стабільність спор протягом 6 місяців та висока антимікробна

активність підтверджують придатність продукту для щоденного використання. Результати можуть бути використані для подальших досліджень та впровадження в промислове виробництво вітчизняного сучасного гігієнічного засобу, імпортозаміщення, відмови від агресивних антисептиків, покращення ситуації з гігієнічною обробкою рук в медичних закладах, в догляді за чутливою та проблемною шкірою, а також покладені в основу розробки лінійки натуральних гігієнічних продуктів.

Апробація результатів дослідження і публікації.

Результати досліджень опубліковані в матеріалах конференції:

Гороз Р. О. Актуальність та перспективи пробіотичних засобів для гігієни шкіри / Гороз Р. О., наук. кер.: Двінських Н.В. // Youth Pharmacy Science: мат. VI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 грудня 2025 р., м. Харків). – Харків: НФаУ, 2025. – С. 190-191.

Зроблено доповідь на тему: «Пробіотичні засоби шкірної гігієни: ефективність проти дисбіозу, лікарняних інфекцій та антибіотикорезистентності» на VI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Youth Pharmacy Science» 10-11 грудня 2025 р., м. Харків.

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи.

Робота складається з вступу, трьох розділів - огляду літератури, об'єктів та методів дослідження, експериментальної частини, висновку. Загальний обсяг роботи 55 стор., кількість таблиць 15, рисунків 4, джерел літератури 33, додатків 1.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Пробиотичні гігієнічні засоби як альтернатива хімічним дезінфікуючим засобам.

Пробиотичні гігієнічні засоби представляють альтернативу хімічним дезінфікуючим засобам (наприклад, на основі хлору чи спирту), які можуть спричиняти антимікробну резистентність, подразнення шкіри та порушення мікробіому.

Останніми роками в усьому світі зростає увага до Пробиотичної системи гігієни прибирання (Probiotic Cleaning Hygiene System, PCHS), яка є інноваційним підходом до санітарії, заснованим на використанні пробиотичних мікроорганізмів для контролю патогенів у навколишньому середовищі. Ця система розроблена як екологічно стійка альтернатива традиційним дезінфікуючим засобам і базується на дослідженнях італійських та бельгійських науковців [2, 8, 17]. PCHS інтегрує пробиотичні детергенти, спеціальні матеріали та методики, що забезпечують стабільне зменшення мікробного навантаження. Особливості цієї системи, описані в джерелах наукової літератури, наведено нижче [1, 2, 8, 13, 15-17].

PCHS функціонує на основі біологічного принципу конкурентного виключення (competitive exclusion), де корисні пробиотичні бактерії заміщують патогени без їхнього хімічного знищення.

Система PCHS використовує спори непатогенних бактерій роду *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*) у концентрації близько 10^6 – 10^7 спор/мл, додані до екологічно стійких детергентів (включаючи неіонні та аніонні поверхнево-активні речовини, ферменти як амілази). Після нанесення на поверхні спори гермінують у вегетативні форми, які споживають доступні поживні речовини, виробляють антимікробні метаболіти (наприклад, бактеріоцини, ферменти) та руйнують біоплівки патогенів. Це призводить до стабільного зменшення патогенів на 70–99% і антибіотикорезистентних генів (ARG) на 99%, без стимулювання розвитку резистентності (на відміну від

хімічних дезінфікуючих засобів, які можуть спричиняти крос-резистентність).

РСНС включає не тільки пробіотичний продукт, але й мікрофіброві матеріали для комбінованого видалення пилу та миття, сертифіковані протоколи застосування (щоденне нанесення з активацією біологічної конкуренції) та навчання персоналу гігієнічній культурі. Це забезпечує довготривалу стабільність мікробіому поверхонь (до 12 місяців).

На відміну від хімічних дезінфікуючих засобів (наприклад, на основі хлору), які діють швидко, але короткочасно та можуть спричиняти резистентність, РСНС забезпечує тривалий ефект, тому що спори стійкі до сухості та хімікатів. Однак, система потребує часу на гермінацію і менш ефективна проти стійких біоплівки без попереднього механічного очищення. Порівняння системи РСНС з хімічною дезінфекцією за основними аспектами наведено в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Порівняння принципів РСНС з традиційними методами [1, 2, 8, 16, 17]

Аспект	Система РСНС	Хімічні дезінфікуючі засоби
Механізм	Конкурентне виключення, заміна мікрофлори	Хімічна інактивація (окислення, денатурація)
Тривалість ефекту	Довготривалий (стабільний мікробіом)	Короткочасний (потребує частого повторення)
Вплив на антибіотикорезистентність (AMR)	Зменшення ARG на 99%, без стимулювання	Може стимулювати крос-резистентність
Екологічність	Біорозкладний, стійкий	Токсичний, забруднює середовище
Час дії	Повільний (гермінація спор)	Швидкий

РСНС переважно застосовується для дезінфекції поверхонь у медичних закладах, де високий ризик нозокоміальних інфекцій (НАІ). Доведена ефективність у багатоцентрових дослідженнях, наприклад у лікарнях Італії та Бельгії РСНС зменшує навантаження патогенів (*S. aureus*, *E. coli*, *P.*

aeruginosa, *C. difficile*, *C. albicans*) на 50–89% на поверхнях (підлоги, меблі, обладнання). Це призводить до зниження частоти НАІ на 52% (з 4,8% до 2,3%), використання антибіотиків на 60,3% та витрат на лікування на 75,4% (економія до 4,1 USD на особу на рік у країнах OECD). У неврологічних відділеннях зменшує резистентні бактерії [1, 2, 8, 17].

РCHS ефективна проти оболонкових вірусів (наприклад, SARS-CoV-2), зменшуючи інфекційність на 90–99% через руйнування вірусних оболонок ферментами *Bacillus* [13].

Зазначають про перспективність РCHS для масового транспорту (автобуси, поїзди) та громадських приміщень для стійкого контролю інфекцій [15]. Використання РCHS включено в рекомендації Robert Koch Institute (Німеччина) для гігієни лікарень як спосіб зменшення AMR без дезінфікуючих засобів.

У випробуваннях (*in vitro*, *in situ*, клінічні) РCHS показав стабільність без мутагенності чи резистентності навіть через 12 місяців. Бюджетний аналіз показує економію (наприклад, 14 млн євро за 5 років в Італії) [17]. Деякі ефекти від застосування РCHS узагальнено в табл. 1.2.

Таблиця 1.2

Ефективність застосування РCHS [2, 8, 13, 15, 16, 17]

Застосування	Ефекти	Приклади патогенів	Доведеність
Лікарні (поверхні)	Зменшення НАІ на 52%, патогенів на 83%	<i>S. aureus</i> , <i>C. difficile</i> , <i>E. coli</i>	Багатоцентрові, Італія/Бельгія (2016–2024)
Неврологічні відділи	Часткове зменшення AMR на 99%	Резистентні гени (ARG)	Неврологічні відділи (2022)
Масовий транспорт	Стійкий контроль інфекцій	Віруси (SARS-CoV-2)	Перспективні (2025)
Загальна гігієна	Економія витрат, зниження антибіотиків	<i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>	Бюджетний аналіз (2020)

РCHS не включає засоби для гігієни рук або шкіри. Система фокусується виключно на дезінфекції неживих поверхонь (*hard surfaces*) у навколишньому середовищі, таких як підлоги, стіни та обладнання. Гігієна

рук (hand hygiene) згадується в джерелах як окремий захід контролю інфекцій, що включає миття рук милом або використання алкогольних дезінфікуючих засобів, і не є частиною PCHS [1, 2, 17]. Наприклад, у рекомендаціях OECD та Robert Koch Institute PCHS доповнює, але не замінює гігієну рук. Відсутність згадок про шкірні застосування пояснюється тим, що спори *Bacillus* не призначені для контакту зі шкірою (можливе подразнення або порушення мікробіому), на відміну від топічних пробіотиків для шкіри (наприклад, лактобактерій). Таким чином, здебільшого для гігієни рук рекомендується використовувати стандартні засоби, а PCHS — для середовища.

Але такі переваги, як здатність спор *Bacillus spp.* зменшувати навантаження патогенів на 90–99% (*St. aureus*, *Pseudomonas spp.*, SARS-CoV-2), пригнічувати гени резистентності та запобігати біоплівкам через конкурентне виключення та вироблення ферментів обумовлюють доцільність застосування пробіотичних систем і для гігієни рук [1, 2, 8, 13, 15, 16, 17]. Але необхідні подальші дослідження в цьому напрямі та проведення тестувань за стандартами [28, 29].

1.2 Застосування пробіотиків для гігієни та покращання стану шкіри.

Застосування пробіотиків для гігієни шкіри зумовлено зростанням інтересу до підтримки шкірного мікробіому, зменшення запалення, посилення бар'єрної функції та боротьби з патогенами без шкоди для корисної мікрофлори [3, 6, 10, 14, 18, 21, 23].

Для шкіри топічні пробіотики та постбіотики ефективні в лікуванні акне, atopічного дерматиту, роацеа, себореї та старіння: вони зменшують запалення (зниження рівню інтерлейкінів IL-1 β , IL-6, IL-8), посилюють гідратацію (підвищення вмісту керамідів, гіалуронової кислоти), пригнічують оксидативний стрес і MMP-ферменти (Matrix Metalloproteinases, матриксні металопротеїнази, це група цинкзалежних ферментів, які здатні розщеплювати практично всі типи білків позаклітинного матриксу (колаген,

еластин, фібронектин тощо) [4, 5, 7, 10, 14, 19, 21-23]. Через шкірно-кишкову вісь пероральні пробіотики впливають системно, модулюючи імунітет і метаболіти [3, 21]. Українські джерела підкреслюють проблеми стандартизації пробіотиків у косметичці [25] та у їхній технології [30], а також роль лактобактерій у здоров'ї [20, 24]. Важливим аспектом розробок є регульоване стандартами тестування активності та безпеки дезінфікуючих засобів [27–29].

Тенденція публікацій свідчить про зростання інтересу з 1–2 джерел у 2016–2018 рр. до 5–7 у 2023–2025 рр., що вказує на фундаментальний зсув до біотехнологічних рішень у підтримці гігієни [2]. Підрахунок використаних в роботі публікацій за роками наведено у табл. 1.3.

Таблиця 1.3

Кількість публікацій щодо пробіотичних засобів для гігієни

Рік	Кількість джерел та посилання	Тематика публікацій
2016	1 [8]	Пробіотична дезінфекція поверхонь
2017	1 [22]	Топічні пробіотики для шкіри
2018	1 [11]	Пробіотики в косметичці
2020	4 [10, 17, 24, 29]	Роль пробіотиків у шкірних станах
2021	5 [6, 13, 18, 27, 31]	Топічні пробіотики та постбіотики
2022	3 [20, 26, 28]	Культивування лактобактерій
2023	5 [3, 7, 21, 25, 30]	Пробіотики для шкіри та atopічного дерматиту
2024	3 [2, 9, 14]	Лактобактерії та ефекти на шкіру
2025	7 [4, 5, 12, 15, 16, 19]	Формуляції для акне, анти-ейджинг, дезінфекція

Кількість публікацій зростає з 1 у 2016 р. до піку в 2025 р., демонструючи актуальність теми в біотехнології [7].

1.3 Аналіз штамів, що використовуються в пробіотичних засобах гігієни.

Штами поділяються на ті, які використовують для поверхневої дезінфекції (переважно спороутворюючі *Bacillus spp.*, стійкі до сухості) та які використовують для шкіри (лактобактерії та біфідобактерії, що модулюють мікробіом). Для шкірних засобів штами обирають за адгезією, антимікробною активністю та відсутністю патогенності [3, 6, 10, 11, 18, 19, 22, 23]. Українські дослідники роблять акценти на бактеріях роду *Bacillus* як пробіотиках [26, 31] та лактобактеріях [20].

Відомості про штами та ефекти їхнього використання в складі гігієнічних засобів наведено в табл. 1.4 [1–23, 26, 31].

Таблиця 1.4

Представники пробіотичних мікроорганізмів та ефекти від їх застосування в складі гігієнічних засобів

Вид застосування / джерела	Штами	Ключові ефекти
1	2	3
Поверхнева дезінфекція [1, 2, 8, 13, 15, 16, 17, 31]	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. licheniformis</i>	Конкурентне виключення патогенів, руйнування біоплівки, зниження резистентності, антивірусна дія (>99% інактивація SARS-CoV-2)
Гігієна шкіри (топічна) [3, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 14, 18, 19, 21, 22, 23]	<i>Lactobacillus plantarum</i> (HY7714, K8, VHProbi V22), <i>L. acidophilus</i> (IDCC 3302), <i>L. rhamnosus</i> (GG, SP1), <i>L. fermentum</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. casei</i> (ATCC 393), <i>L. sakei</i> , <i>L. johnsonii</i> , <i>L. paracasei</i>	Посилення бар'єру (цераміди, гіалуронова кислота), антизапалення (зниження ІЛ-6/8), анти-ейджинг (інгібування MMP), лікування акне/дерматиту

1	2	3
Гігієна шкіри (топічна/пероральна) [3, 6, 14, 18, 21]	<i>Bifidobacterium longum</i> (Reuter), <i>B. bifidum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. adolescentis</i>	Зниження оксидативного стресу, модуляція імунітету, покращення гідrataції та еластичності
Інші (шкіра/поверхні) [3, 4, 6, 7, 22, 23]	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Vitreoscilla filiformis</i> , <i>Roseomonas mucosa</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Підвищення керамідів, лікування себореї/розацеа, антимікробна дія проти <i>S. acnes</i> , <i>S. aureus</i>

З наведених даних можна зробити висновок про переважність використання в складі засобу для гігієни рук бактерій роду *Bacillus* та лактобактерій.

1.4 Огляд пробіотиків роду *Bacillus* у засобах для гігієни шкіри.

Пробіотики роду *Bacillus* є спороутворюючими бактеріями, які все частіше використовуються в косметичних і гігієнічних засобах для шкіри завдяки своїй стійкості, здатності виживати в несприятливих умовах (наприклад, у складі засобів) та біологічній активності. На відміну від традиційних хімічних дезінфікуючих засобів, які можуть порушувати природний мікробіом шкіри, пробіотики *Bacillus* сприяють його балансу, пригнічуючи патогени та посилюючи бар'єрну функцію. Вони особливо актуальні для гігієни шкіри, оскільки допомагають у профілактиці інфекцій, зменшенні запалення та відновленні після пошкоджень.

Штами *Bacillus* обирають за їхню безпечність (непатогенні види, на відміну від *B. cereus*), стійкість до кислотності, температури та ферментів, що дозволяє інтегрувати їх у креми, лосьйони, мила та спреї. Вони формують спори, які активуються на шкірі, забезпечуючи тривалий ефект. Дані щодо основних застосовуваних штамів *Bacillus* наведено у табл. 1.5 [26, 31].

Основні штами *Bacillus* у засобах для гігієни шкіри

Штам	Властивості/застосування	Ефекти в гігієні шкіри
<i>B. subtilis</i>	Антиоксидантні та антимікробні властивості (виробляє субтилін, бациліцин); стійкий до шлункової кислоти. Використовується в мультиштамових формулах	Зменшення запалення в акне, псоріазі; відновлення бар'єру; анти-ейджинг (інгібування MMP)
<i>B. licheniformis</i>	Виробляє коагулін, сурфактин; антибіотичні ефекти. Часто в синбіотиках з інуліном	Контроль патогенів (<i>S. aureus</i> , <i>C. acnes</i>); зволоження та загоєння ран
<i>B. pumilus</i>	Бактеріоцини (ерицин S); імуномодуляція. У топічних спреях та кремах	Профілактика дисбактеріозу; зменшення порфіринів в акне; гігієна чутливої шкіри
<i>B. coagulans</i>	Спороутворюючий, антиоксидант (збільшення глутатіону); регулює імунітет. У ферментованих продуктах	Боротьба з акне (зменшення запалення); покращення гідrataції; підтримка мікробіому
<i>B. megaterium</i>	Антипроліферативні ефекти; гістопротекція. У комбінаціях з пребіотиками	Захист від UV-пошкоджень; регенерація шкіри; гігієна в умовах стресу
<i>B. amylo-liquefaciens</i>	Виробляє мегасин; антигрибкові властивості. У синбіотичних кремах	Зменшення патогенів у дерматитах; посилення бар'єру; гігієна для проблемної шкіри
<i>B. clausii</i>	Імуномодуляція; зменшення цитокінів (IL-8). У пероральних і топічних формулах	Лікування розацеа, себореї; профілактика інфекцій; баланс мікробіому

Пробіотики *Bacillus* діють на шкіру через кілька механізмів: через конкурентне виключення патогенів, вироблення метаболітів (бактеріоцини, ферменти, органічні кислоти) та модуляцію імунної відповіді. Вони впливають на вісь кишка-шкіра, зменшуючи системне запалення, яке проявляється на шкірі [3, 4, 21, 22].

Конкурентне виключення патогенів проявляється в тому, що збільшення популяції пробіотичних *Bacillus* (на 10 днів після нанесення)

зменшує кількість патогенів як *Cutibacterium acnes* (на 50–80%), *Staphylococcus aureus*, *Anaerococcus* та *Rothia*.

Антизапальний та антиоксидантний ефект забезпечується пригніченням білкового комплексу NF-κB (фактора транскрипції, який регулює імунну відповідь, захист від вірусів, виживання клітини), зменшенням прозапальних цитокінів (IL-1β, IL-6, IL-8, TNF-α), інгібуванням ферментів MMP та реактивних форм кисню. Підвищують внутрішньоклітинний механізм захисту від окиснювального стресу та токсинів.

Бар'єрна функція та гідратація пов'язана з підвищенням керамідів, гіалуронової кислоти, зменшенням трансепідермальної втрати води, що також сприяє регенерації шкіри.

Антимікробна дія обумовлена антагонізмом проти *Candida*, *Proteus*, пригнічення обміну сигналами у бактерій в біоплівках. Відома ефективність проти акне (зменшення порфіринів, себореї) та дерматитів.

Анти-ейджинг проявляється завдяки зменшенню оксидативного стресу, підтримці колагену та захисті від УФ-променів.

Так, у дослідженні з 31 жінками з акне (4 тижні топічного синбіотика з *B. subtilis*, *B. licheniformis* тощо) спостерігалось зниження IGA-балу (тяжкості акне) на 50%, себореї на 30%, запалених елементів на 40%; покращення якості життя (Acne-QoL) на 25%. У псоріазі (12 тижнів перорально з *B. clausii*, *B. coagulans*) PASI-індекс (індекс площі та тяжкості псоріазу) зменшився на 60%, запалення — на 40% [7, 9].

Огляд статистичних та аналітичних даних з джерел ринкової аналітики та прогнозів (OpenPR: Worldwide Public Relations, FMI: future market insights, BR: business research insights) виявив, що розробка гігієнічних засобів на основі *Bacillus* є перспективною завдяки зростанню ринку пробіотичної косметики, який у 2026 році оцінюється в 3,5–4 млрд USD і досягне 7,2 млрд USD до 2033 року (середньорічний темп зростання у складних відсотках або CAGR - 10–13%). Ринок мікробіом-косметики зросте з 45,7 млрд USD у 2026

до 141 млрд USD до 2035 (CAGR 15%). За швидкістю росту лідирує азіатсько-тихоокеанський регіон, за рештою показників (попит на натуральні продукти для чутливої шкіри, анти-ейджинг тощо) - Північна Америка. Комерційні приклади: Synbio® (з *Bacillus* та інуліном), Probilife, Remedium™.

До переваг використання *Bacillus* як спороутворюючих бактерій відноситься також їх стійкість: здатність спор виживати у споживчих формах (О/В емульсії), на шкірі — до 10 днів, сумісність з пребіотиками (наприклад, з інуліном) у складі синбіотиків.

Недоліками є потенціальна токсичність (у патогенних штаммах), алергічний ефект, а також потреба в стандартизації (FDA-валідація).

Серед перспектив застосування штамів роду *Bacillus* можна відмітити розширення застосування для гігієни рук/тіла та комбінування з постбіотиками, селекція штамів для специфічних ефектів, що робить *Bacillus* ключовим для стійких гігієнічних засобів. Також цікавим є розробка мультиштамових формул, засобів персоналізованої косметики тощо.

Отже, наведені дані підкреслюють перспективність представників роду *Bacillus* при переході від хімічних до біологічних рішень у гігієні шкіри.

1.5 Огляд перспектив використання лактобактерій у засобах для гігієни шкіри.

Використання живих штамів лактобактерій (наприклад, *Lactobacillus plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*) у топічних засобах для гігієни шкіри має низку суттєвих недоліків, пов'язаних зі стабільністю, безпекою, регуляторними аспектами та технологічними проблемами у створенні засобів. Ці проблеми часто призводять до зниження ефективності продуктів і обмежують їхнє широке застосування. Нами проаналізовано основні з обмежуючих факторів.

Проблеми стабільності та життєздатності

Живі лактобактерії чутливі до зовнішніх факторів, таких як температура, вологість, рН та консерванти в складі косметичних та інших засобів. Вони можуть втрачати життєздатність під час зберігання,

транспортування або нанесення на шкіру, де умови (наприклад, кислий рН шкіри чи низька вологість) не сприяють їхній колонізації та метаболічній активності. Це призводить до нестабільної ефективності, оскільки бактерії не завжди здатні проростати та конкурувати з патогенами. Наприклад, у складах з антисептиками чи емульсіями спостерігається значне зниження кількості живих пробіотичних мікроорганізмів, що ускладнює підтримку необхідної для ефекту концентрації (зазвичай понад 10^6 КУО/мл). Крім того, у нестерильних продуктах консерванти з широким спектром дії можуть знищувати або змінювати мікробіоту, роблячи рецептури складними для стабільного виробництва [3, 6, 11, 18, 21, 23].

Ризики безпеки та здоров'я

Живі бактерії можуть спричиняти алергічні реакції, бактеріємії чи передачу генів антибіотикорезистентності патогенам, особливо у вразливих груп (імунокомпрометованих осіб, немовлят, вагітних, людей похилого віку). У шкірних засобах це спричиняє ризик дисбалансу мікробіому, переростання патогенів чи системних інфекцій, якщо бактерії проникають через пошкоджену шкіру. Дослідження вказують на потенціал геномних мутацій під час культивування, що посилює безпекові проблеми, а також на цитотоксичність при високих концентраціях. У контексті гігієни шкіри це особливо актуально для засобів, призначених для щоденного використання, де тривалий контакт може призводити до подразнення чи запалення [3, 6, 11, 14, 18, 19, 23].

Регуляторні та стандартизаційні обмеження

Багато країн (включаючи США та ЄС) мають суворі норми щодо кількості живих мікроорганізмів у косметиці: не більше 500 КУО/г для продуктів навколо очей і 1000 КУО/г для інших (FDA). Відсутність чітких регуляцій для топічних пробіотиків, брак FDA-схвалення та необхідність проходження тестів на ефективність консервантів (наприклад, за вимогами USP) ускладнюють комерціалізацію. В засобах з пробіотиками часто не вказують конкретні штами, що перешкоджає контролю ефективності та

безпеки, а клінічні випробування з фокусом на особисту гігієну, а не терапію, обмежені. В українських джерелах підкреслюються проблеми стандартизації та тестування, відповідно до Державної Фармакопеї України та ДСТУ EN 12353:2022 «Хімічні дезінфікувальні та антисептичні засоби. Зберігання тест-організмів для визначення бактерицидної (зокрема легіонеллу), мікобактеріцидної, спороцидної, фунгіцидної та віруліцидної (також бактеріофаги) активності», де живі бактерії вимагають складних випробувань на активність і безпеку [6, 11, 14, 18, 21, 23, 29].

Рецептурні та технологічні проблеми

Інтеграція живих лактобактерій у мила, креми чи лосьйони ускладнена через несумісність з емульсіями, ПАР чи іншими інгредієнтами, що призводить до втрати активності (наприклад, 2,70 log КУО/г після інкапсуляції). Шкірний бар'єр обмежує проникнення, а варіабельність рецепторів на епітелії впливає на адгезію. Це вимагає спеціальних носіїв (наприклад, мікросфер з альгінату), але все одно не гарантує стійкості [11, 18, 19, 21, 23].

Постбіотики лактобактерій як альтернатива живим мікроорганізмам

Постбіотики — це неживі компоненти (лізати, супернатанти, метаболіти) пробіотиків, що забезпечують стабільність, відсутність ризику колонізації та сумісність з косметичними та гігієнічними рецептурами [3, 6, 14, 18, 19, 23].

Вони кращі для шкірних засобів, оскільки стійкі до рН шкіри та консервантів, не вимагають підтримки життєздатності клітин, що полегшує інтеграцію в продукти (наприклад, креми, мила). Вони не втрачають активність під час зберігання чи нанесення, на відміну від живих штамів.

Відсутність живих клітин виключає ризики інфекцій, алергій, бактеріємії чи передачі резистентності. Вони безпечні для імунокомпрометованих осіб і не викликають мутацій чи небажаних взаємодій з мікробіомом. Постбіотики класифікуються як косметичні інгредієнти, що спрощує регуляцію.

Постбіотики зберігають антимікробну дію (проти *S. aureus*, *P. acnes*, *E. coli*), протизапальну (зниження ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8, TNF- α), антиоксидантну та бар'єрну функції (підвищення церамідів, гіалуронової кислоти, щільних з'єднань). Вони ефективні при акне, atopічному дерматиті, розацеа, старінні шкіри та загоєнні ран (наприклад, 90% закриття ран у тестах). Через шкірно-кишкову вісь вони модулюють імунітет системно [6, 11, 14, 18, 19, 21, 23, 31].

З боку технології та рецептур – постбіотики легше інтегрувати в склад, наприклад, як лізати чи фільтрати, без потреби в спеціальних носіях. Вони відповідають тенденціям ринку, з потенціалом для стандартизації за фармакопейними нормами [11, 18, 19, 23, 29].

Постбіотики лактобактерій включають органічні кислоти, бактеріоцини, ферменти та екзополісахариди, що пригнічують патогени, зменшують запалення та відновлюють бар'єр. Наприклад, супернатанти *L. plantarum* зменшують меланін і зморшки, а метаболіти *L. casei* — патогени без шкоди для коменсалів [3, 9, 12, 14, 20, 21].

В табл. 1.5 узагальнено літературні дані щодо складу та дії постбіотичних компонентів лактобактерій [3, 6, 9, 12, 14, 19, 21, 23].

Таблиця 1.5

Постбіотичні компоненти лактобактерій та їх дія на шкіру

Штам лактобактерій	Постбіотичні компоненти	Ефекти для гігієни шкіри	Джерела
1	2	3	4
<i>L. plantarum</i> (HY7714, K8)	Лізати, супернатанти, екзополісахариди, молочна кислота	Анти-ейджинг (інгібування MMP-1/2/9), гідrataція (підвищення церамідів), антизапалення (зниження ІЛ-1 β /ІЛ-8)	3, 5, 14, 21
<i>L. acidophilus</i> (IDCC 3302)	Фільтрати, супернатанти, антиоксиданти (глутатіон, SOD)	Захист від UV (зниження ROS), бар'єр (підвищення гіалуронової кислоти), лікування акне	3, 4, 21
<i>L. rhamnosus</i> (GG, SP1)	Лізати, бактеріоцини, органічні кислоти	Модуляція імунітету (ІЛ-10), лікування дерматиту/акне, посилення щільних з'єднань	3, 6, 14, 18

Продовження таблиці 1.5

1	2	3	4
<i>L. fermentum</i> , <i>L. reuteri</i>	Метаболіти (молочна/фенілмол очна кислота), ферменти (естерази)	Антимікробна дія (<i>S. aureus</i>), гідратація (AQP3), загоєння ран	3, 9, 12, 19
<i>L. casei</i> (ATCC 393), <i>L. helveticus</i>	Супернатанти, пероксид водню, біосурфактанти	Інгібування біоплівки, регенерація (90% загоєння ран), антиоксидантний ефект	3, 11, 19, 23

Постбіотики лактобактерій перспективні для введення до складу засобів (наприклад, мікросфери з альгінату [19]), але потребують стандартизації для забезпечення постійної безпеки та ефективності [27–30].

Отже, постбіотики лактобактерій є кращою альтернативою для гігієнічних засобів шкіри, вирішуючи ключові недоліки живих форм і забезпечуючи стійкі переваги в біотехнологічних розробках.

Висновок до розділу 1:

У цьому розділі розглянуто пробіотичні гігієнічні засоби як стійку та екологічну альтернативу традиційним хімічним дезінфікуючим засобам. Було проаналізовано Пробіотичну систему гігієни прибирання (PCHS), яка функціонує на основі принципу конкурентного виключення, застосовуючи спори непатогенних бактерій роду *Bacillus* для контролю патогенів на поверхнях. Виявлено, що PCHS забезпечує довготривалий ефект, зменшує антибіотикорезистентність та знижує частоту нозокоміальних інфекцій у медичних закладах.

Також досліджено застосування пробіотиків для гігієни шкіри, де особлива увага приділяється *Bacillus spp.* та лактобактеріям. Зазначено, що використання *Bacillus spp.* у засобах для шкіри є перспективним напрямком завдяки їх стійкості та здатності до біологічної активності. Встановлено, що живі лактобактерії мають проблеми зі стабільністю та безпекою, що обмежує їх використання, тоді як постбіотики лактобактерій є перспективною альтернативою їх використання в засобах для гігієни шкіри.

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти досліджень.

2.1.1. Спороутворюючі пробіотики *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens*.

Bacillus subtilis та *Bacillus amyloliquefaciens* є перспективними об'єктами досліджень як спороутворюючі пробіотики з високою стійкістю до несприятливих умов (температура, рН, сухість), що робить їх ідеальними для інтеграції в гігієнічні засоби, такі як рідке мило.

Обидва штами подібні за механізмами дії, які включають конкурентне виключення патогенів, вироблення бактеріоцинів та ферментів, але *B. amyloliquefaciens* часто демонструє сильнішу антимікробну активність проти грибів та біоплівки, тоді як *B. subtilis* ефективніший у антиоксидантних ефектах [26, 31, 33].

При порівнянні властивостей цих штамів як спорових пробіотичних мікроорганізмів було з'ясовано таке: обидва види — грампозитивні аеробні палички, здатні утворювати ендоспори, що забезпечує виживання в формулах мила та активацію на шкірі. Досліджено, що вони пригнічують патогени (*S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*) через бактеріоцини (субтилін у *B. subtilis*, мегасин у *B. amyloliquefaciens*), ферменти (амілази, протеази) та конкурентне виключення, зменшуючи біоплівки на 70–90%. *B. subtilis* сильніше впливає на протизапальну дію (зниження інтерлейкінів ІЛ-6/ІЛ-8), тоді як *B. amyloliquefaciens* ефективніший проти грибів *Candida spp.* та вірусів. Виявлено синергію в комбінації: спільне використання посилює антимікробний ефект на 30–50% [8, 13, 15, 16, 26, 31, 33].

Статус GRAS та характеристики безпеки

Bacillus subtilis має статус GRAS (Generally Recognized As Safe) від FDA для харчових та косметичних застосувань, як непатогенний штам з низьким ризиком (відсутність токсинів, мутагенності). *B. amyloliquefaciens* також вважається безпечним (QPS статус від EFSA), але потребує перевірки на відсутність генів резистентності. Обидва штами безпечні для топічного

використання: не викликають бактеріємії, але можуть спричиняти алергію в імунокомпрометованих осіб. Рекомендовано використовувати непатогенні штами (АТСС 6633 для *subtilis*) та тестувати на цитотоксичність ($IC_{50} > 10\%$). Виявлено, що спори стійкі до консервантів, але рецептури потребують рівня рН 4–6 для стабільності [27, 28, 29, 31, 33].

Мікро- та макроморфологічні характеристики.

Мікроморфологія: обидва — рухомі палички (2–3 мкм × 0,7–0,8 мкм), грампозитивні, з центральними еліпсоїдними спорами (1–1,5 мкм). *B. subtilis* має гладкі спори, *B. amyloliquefaciens* — злегка зморщені.

Макроморфологія: колонії на агарі круглі (3–5 мм), шорсткі, кремові/коричневі; *B. subtilis* — з матовим блиском, *B. amyloliquefaciens* — з мукоїдним слизом через утворення екзополісахаридів [26, 31, 33].

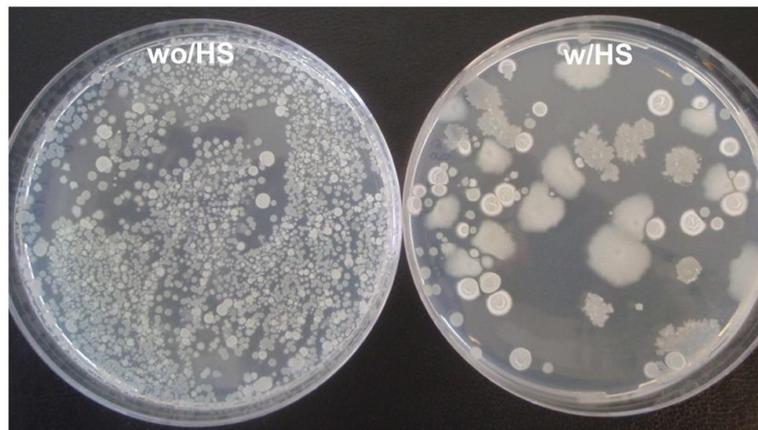


Рис. 2.1. Колонії *Bacillus* на чашках з агаром з (w/HS) або без (wo/HS) попередньої обробки тепловим шоком (80°C, 15 хв.) [8].

Додаткові характеристики: оптимальний ріст спостерігається при 30–40 °C та рН 5–9, біохімічні властивості охоплюють здатність до ферментації вуглеводів, вироблення ферментів амілаз та протеаз. З боку генетичних особливостей - відсутність генів антибіотикорезистентності (AMR-генів) [8, 13, 26, 31, 33].

2.1.2. Лізат *Lactobacillus plantarum*.

Лізат *L. plantarum* обрано об'єктом досліджень роботи, оскільки він є постбіотичним компонентом, який забезпечує стабільну біоактивність без ризиків, притаманних живим мікроорганізмам.

Його властивості як стабільного, неживого продукту, отриманого шляхом лізису клітин *L. plantarum*, наприклад, ультразвуком або ферментативно, робить його ідеальним для інтеграції в гігієнічні засоби, такі як рідке мило.

Виявлено, що лізат модулює мікробіом шкіри, посилюючи бар'єрну функцію завдяки збільшенню кількості керамідів та гіалуронової кислоти, а також пригнічуючи патогени (*S. aureus*, *E. coli*, *P. acnes*) на 90–99% через конкурентне виключення та дію антибіотичних метаболітів. Досліджено його антиоксидантну дію та протизапальну (зменшення прозапальних цитокінів ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8) в складі засобів для догляду за шкірою, зменшення сухості і запалення при частому митті рук. Порівняно з живими пробіотиками, лізат стійкіший до рН (витримує діапазон 3,5–6,5), температури та консервантів, без ризику колонізації чи мутацій [3, 9, 12, 14, 20, 21, 23, 24].

Склад лізату

Лізат *L. plantarum* складається з неживих компонентів: клітинних фрагментів, супернатантів та метаболітів, отриманих після дезінтеграції. З'ясовано, що основні складові включають органічні кислоти (молочна, фенілмолочна, оцтова — 40–60% активності), бактеріоцини (плантарицин, лактоцин — для антимікробної дії), ферменти (естерази, пероксидази), пептиди (антиоксидантні, протизапальні) та екзополісахариди (важливо для зволоження).

Виявлено, що концентрація метаболітів залежить від штаму (наприклад, НУ7714 продукує більше гіалуронової кислоти), забезпечуючи синергію з пробіотиками роду *Bacillus*. Досліджено, що лізат багатий на антиоксиданти - глутатіон, супероксиддисмутаза. Останній фермент ефективно нейтралізує супероксид-аніон, сприяючи зниженню оксидативного стресу шкіри рук. *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens* також синтезують супероксиддисмутаза, що додає антиоксидантний ефект у комбінації [3, 9, 12, 14, 20, 21, 23, 24].

Статус GRAS та характеристики безпеки

L. plantarum має статус GRAS від FDA та QPS від EFSA як безпечний для харчових і косметичних застосувань, з низьким ризиком (відсутність токсинів, патогенності). Лізат ще безпечніший, оскільки неживий: виключає бактеріємії, алергії чи передачу резистентності, підходить для імунокомпрометованих осіб. Проаналізовано, що цитотоксичність низька (IC50 >10% на клітинах HaCaT), без мутагенності [9, 12, 20, 24].

Мікро- та макроморфологічні характеристики

Мікроморфологія. *L. plantarum* - грампозитивні палички (2–3 мкм × 0,5–1 мкм), нерухомі, анаеробні/факультативні аероби. Лізат — фрагменти клітин (пептидоглікан, ліпотейхоїнові кислоти).

Макроморфологія: Колонії круглі (1–2 мм), кремові, гладкі на MRS-агарі. Для лізату морфологія нерелевантна, але вихідний штам впливає на склад [12, 20].

Додаткові характеристики

Біохімічні властивості *L. plantarum* здатність ферментувати лактозу, продукувати молочну кислоту (до 90%). Генетичні властивості - відсутність AMR-генів. Оптимальний ріст спостерігається при 15–45 °С, рН 4–7. [3, 9, 12, 14, 20, 21, 23, 24].

2.1.3. Фенілетанол.

2-фенілетанол (2-phenylethanol, INCI: Phenethyl Alcohol) — це ароматичний первинний спирт, який широко використовується в косметиці та засобах особистої гігієни як багатофункціональна допоміжна речовина [18].

Основні функції фенілетанолу в складі косметичних засобів:

- *антимікробний консервант*. Забезпечує захист від росту бактерій, дріжджів і плісняви. Ефективний проти широкого спектру мікроорганізмів (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Candida* тощо). Часто застосовується в концентраціях 0,5–1,5%. Добре зберігає «головний простір» у флаконі завдяки леткості;

- *ароматизатор*. Має м'який квітковий запах троянди/гіацинту/жасмину, що робить його натуральним ароматизатором;
- *розчинник і стабілізатор*. Покращує розчинність ефірних олій та інших гідрофобних компонентів у водних системах;
- має легку антиоксидантну та зволожуючу дію, сприяє м'якості шкіри [18].

Фізичні та хімічні характеристики

Безбарвна або злегка жовтувата рідина з характерним квітковим ароматом. Розчинність у воді обмежена (~2 г/100 мл), тому краще вводити в емульсії або після емульгування. Термолабільний, тому додають в суміш при температурі нижче 40 °С. Стабільний у діапазоні рН 5–6.

Сумісний з більшістю ПАР (лаурилсульфат, кокамідопропіл бетаїн, глюкозиди), лимонною кислотою, пропіленгліколем та ефірними оліями.

Характеристики безпеки

Визнаний «безпечним» у концентраціях до 1% (ре-оцінка 2006 року підтверджена). Не є сенсibilізатором, некомедогенний (не закупорює пори). Має помірний потенціал алергії та імунотоксичності в чутливих осіб. Дозволений FDA як пряма харчова добавка. В ЄС та Україні дозволений у косметичі без обмежень концентрації (за Annex VI не регулюється як консервант, але використовується як ароматизатор).

Може спричиняти слабе до помірного подразнення шкіри та очей при концентраціях більше 1%. У 0,5% — низький ризик, підходить для чутливої шкіри (краще за бензиловий спирт).

Натуральний (може бути отриманий з рослин або синтетично) [18].

Сумісність з пробіотиками та постбіотиками (B. subtilis, B. amyloliquefaciens спори, лізат L. plantarum)

У концентраціях 0,5–1% не пригнічує спори *Bacillus* (які стійкі до багатьох консервантів завдяки споровій формі).

Сумісний з лізатами та ферментами постбіотиків *Lactobacillus*, оскільки вони неживі, фенілетанол не впливає на їхню біоактивність, яка обумовлена антимікробними пептидами, органічними кислотами тощо.

У косметиці (емульсії, мила, кондиціонери) фенілетанол часто використовується саме для захисту продуктів з пробіотиками та ферментами, не порушуючи їхньої ефективності.

2.1.4. Олія чайного дерева.

Ефірна олія чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*) включена до складу мила в кількості 0,30 % як натуральний ароматизатор та функціональний компонент з антимікробними властивостями. Її введення обґрунтоване необхідністю посилення антимікробної дії пробіотичного комплексу, збереження приємного органолептичного профілю продукту та підвищення безпеки для щоденного використання.

Основні властивості ефірної олії чайного дерева

- *Антимікробна дія широкого спектра:* містить високий вміст терпінен-4-олу (30–48 %), який ефективно пригнічує ріст грампозитивних (*S. aureus*, *Cutibacterium acnes*) та грамнегативних бактерій (*E. coli*, *P. aeruginosa*), грибів (*Candida spp.*) та деяких вірусів з оболонкою. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) для багатьох патогенів становить 0,25–0,5 %.
- *Здатність порушувати структуру біоплівки патогенів,* що посилює дію пробіотичних спор *Bacillus*.
- *Протизапальна та загоювальна дія:* зменшує продукцію прозапальних цитокінів, сприяє регенерації шкіри та зменшує подразнення від частого миття.
- *Антиоксидантні властивості:* нейтралізує вільні радикали, доповнюючи антиоксидантну дію лізату *L. plantarum*.
- *Натуральний ароматизатор:* забезпечує свіжий, трав'янистий запах, що маскує можливі сторонні ноти від ПАР чи консервантів [6, 18, 23].

Доцільність включення олії чайного дерева в пробіотичне мило обумовлена тим, що ця олія швидко знищує або інгібує патогени на поверхні шкіри, тоді як спори *Bacillus* та лізат *L. plantarum* забезпечують тривалий конкурентний захист і відновлення мікробіому. На відміну від хімічних

антисептиків (триклозан, хлоргексидин), олія діє на кілька мішеней у клітині патогена одночасно, що зменшує ймовірність формування резистентних штамів. В запропонованій концентрації 0,3 % практично не викликає подразнення, а сприяє зменшенню сухості та запалення, що особливо важливо при частому митті рук, не пригнічує спори *Bacillus* і не впливає на біоактивність лізату *L. plantarum*. До того ж вона відповідає тренду «чиста етикетка» та «мікробіом-дружня» косметика, підвищує довіру споживачів до продукту [6, 18, 23].

2.1.5. Іоногенні та неіоногенні ПАР.

У запропонованому складі рідкого мила «VacilloPlant Clean Hands» використано три типи поверхнево-активних речовин (ПАР), які забезпечують ефективне очищення, піноутворення та м'яку дію на шкіру при щоденному використанні [11, 18, 25].

Лаурилсульфат натрію (SLS, 5,00 %) — аніонна ПАР, основний миючий компонент. Володіє високою піноутворювальною здатністю та відмінною миючою дією завдяки сильному зниженню поверхневого натягу води. SLS ефективно емульгує жир, бруд і мікробні клітини, що сприяє механічному видаленню патогенів з поверхні шкіри. Однак при концентраціях вище 8–10 % може викликати подразнення, сухість і порушення ліпідного бар'єру шкіри, особливо при частому митті. У концентрації 5 % SLS забезпечує хороше очищення, але його агресивність компенсується м'якими спів-ПАР, що знижує ризик подразнення.

Кокамідопропіл бетаїн (6,00 %) — амфотерна (зональна) ПАР, отримана з кокосової олії. Виконує роль спів-сурфактанту: значно знижує подразнювальну дію SLS, стабілізує піну, покращує густину та стійкість піни, сприяє м'якості відчуття на шкірі. Кокамідопропіл бетаїн добре сумісний з аніонними та неіоногенними ПАР, підвищує загальну толерантність формули до електролітів і дозволяє отримувати густу, кремopodobну піну. Він помірно біорозкладний і вважається безпечним для щоденного використання.

Коко-глюкозид (5,00 %) — неіоногенна ПАР, похідна від кокосової олії та глюкози. Є одним із найм'якших і найбільш екологічних сурфактантів. Забезпечує додаткове м'яке очищення, добре розчиняє жир без порушення гідроліпідної мантії шкіри, має високу біорозкладність (>98 %). Коко-глюкозид покращує сумісність формули з пробіотичними компонентами, оскільки не чинить сильного бактерицидного впливу на спори *Bacillus* і не дестабілізує лізат *L. plantarum*. Він також сприяє відчуттю зволоження після миття.

Сумісна дія трьох ПАР (загальна концентрація 16 %) дозволяє досягти оптимального балансу: потужне очищення від забруднень і мікробів (завдяки SLS), стабільна та густа піна (завдяки кокамідопропіл бетаїну), м'якість і екологічність (завдяки коко-глюкозиді). Такий підбір знижує ризик сухості та подразнення при частому митті, що критично для цільових груп (медичний персонал, люди з чутливою шкірою).

2.2. Методи досліджень.

Методи досліджень, які використані в роботі, базуються на стандартних мікробіологічних і біохімічних методах, доступних у більшості біотехнологічних лабораторій, та розраховані на використання інкубаторів (термостатів), мікроскопів, рН-метрів, спектрофотометрів, ламінарних боксів та іншого обладнання для біотехнологічних досліджень.

2.2.1. Методика визначення антагоністичної активності пробіотичних компонентів

Методику наведено в Наказі МОЗ України №2024 від 03.09.2020 та EN 13624/EN 13727, а також в джерелах [8, 13, 22, 26].

Як тест-штами використовували: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Середовище: агар Мюллер-Хінтон.

Агар-дифузійний тест (метод лунок). Суспензію тест-штамів наносять на агар, роблять лунки діаметром 8 мм, вносять по 100 мкл зразка

мила, попередньо розведеного 1:10. Інкубують 24 год при 37 °С. Вимірюють зони пригнічення в мм. Дослід повторюють тричі.

2.2.2. Методика оцінки життєздатності спор методом підрахунку КУО.

Методику наведено в ДСТУ EN 12353:2022 та ISO 4833-1:2013, а також в джерелах [26, 31].

Розводять зразок мила у стерильній воді 1:10, роблять серійні розведення проби та висівають на триптон-соевий агар. Інкубують 24–48 год при 37 °С. Підраховують кількість КУО. Здійснюють триразове повторення дослідів.

2.2.3. Визначення антиоксидантної активності лізату *L. plantarum*

Визначення проводять за тестом DPPH (2,2-дифеніл-1-пікрилгідразил) для визначення вільних радикалів. Методику використовували в джерелах [3, 9, 14, 32].

Розводять зразок мила водою очищеною у співвідношенні 1:10. Водне розведення дозволяє оцінити антиоксидантну активність саме в умовах, близьких до використання продукту.

0,5 мл водного розведення мила 1:10 змішують з 3,0 мл DPPH-розчину (0,1 мМ у метанолі). Інкубують 30 хв у темряві при 25 °С. Вимірюють абсорбцію (оптичну густина) при 517 нм на спектрофотометрі, повторюючи тричі.

Склад контрольного розчину (Аконтр): до 3,0 мл DPPH-розчину (0,1 мМ у метанолі) додають 0,5 мл чистого метанолу. Аконтр відображає початкову концентрацію DPPH-радикалів без впливу антиоксиданту.

Розраховують відсоток пригнічення DPPH-радикалу:

$$\text{ВП\%} = \frac{\text{Аконтр} - \text{Азр}}{\text{Аконтр}} \times 100$$

де: Аконтр – поглинання контролю, а Азр – поглинання зразка.

Для визначення ІС₅₀ — концентрації досліджуваного зразка, при якій пригнічення DPPH-радикалу становить 50% від максимального можливого значення готують серійні розведення: 1:10, 1:50, 1:100 тощо. Для кожного

розведення визначають % пригнічення та будують графік залежності, де вісь X — концентрація (мг/мл), вісь Y — % пригнічення (від 0 до 100%). На кривій знаходять точку, де $Y = 50\%$.

2.2.4. Визначення мікробіологічної чистоти.

Мікробіологічну чистоту визначали відповідно до ДСТУ ISO 21149:2010 з використанням методів, сумісних з ДСТУ EN 12353:2022 [27-29].

Підготовка проби: 1 г мила розводять у 9 мл стерильного буферного розчину (фосфатний буфер з нейтралізатором, оскільки є консервант) для отримання початкового розведення 1:10. Готують серійні розведення (1:100, 1:1000 тощо). Як нейтралізатор додають лецитин та полісорбат 80.

Посів: 1 мл кожного розведення переносять на поверхню або вглиб чашки Петрі з агаровим середовищем (триптон-соєвий або соєво-казеїновий агар).

Інкубація: Чашки інкубують аеробно при 30–37 °C протягом 48–72 годин (для мезофільних бактерій).

Обчислюють кількість колоній (КУО/г або КУО/мл) з урахуванням розведення. Результати виражають як загальну кількість мезофільних аеробних бактерій.

Окремо перевіряють відсутність *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Candida albicans* тощо (за ДСТУ ISO 22718, 22717 тощо).

Межі прийнятності для мила для рук: Загальна кількість мезофільних аеробних бактерій $\leq 10^2$ КУО/г. Відсутність патогенів (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *Candida albicans*).

Особливості при наявності спор Bacillus. Спори *B. subtilis* та *B. atyloliquefaciens* заважають стандартним випробуванням мікробіологічної чистоти, бо вони самі є живими мікроорганізмами з високою стійкістю.

Тому здійснюють окреме тестування «без пробіотиків» — готують контрольні зразки з тим же складом, але без спор *Bacillus* і проводять на них випробування.

2.2.5. Інструментальні методи.

Використовували такі інструментальні методи:

Потенціометричний метод визначення рН та корегування.

Показник рН контролюють потенціометрично за допомогою лабораторного рН-метра марки OHAUS Starter 3100, відповідно до вимог ДФУ, 2.2.3. та інструкції щодо користування рН-метром «OHAUS Starter 3100».

Інструментальний метод дозволяє вимірювати рН в широкому діапазоні (від 0,00 до 14,00) і з точністю до 0,001 одиниці рН.



Рис. 2.2. рН-метр «OHAUS Starter 3100».

Спектрофотометричний метод визначення абсорбції

Абсорбцію (оптичну густину) при визначенні відсотку пригнічення DPPH-радикалу вимірювали на спектрофотометрі марки ULAB 101 за інструкцією до приладу.

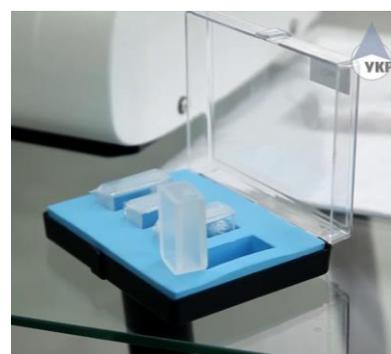


Рис. 2.3. Спектрофотометрі марки ULAB 101.

Висновок до 2 розділу:

Були розглянуті та порівняні властивості основних компонентів рідкого мила для гієни рук - спороутворюючих бактерій *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens*, статус GRAS та характеристики безпеки, мікро- та макроморфологічні та інші характеристики, для лізату *L. plantarum* наведено способи його отримання, фізіологічні та пробіотичні властивості, склад, характеристики безпеки та інші.

Розглянуто допоміжні речовини – консервант фенілетанол, ароматизатор олія чайного дерева, поверхнево-активних речовин (аніонна ПАР лаурилсульфат натрію, амфотерна ПАР кокамідопропіл бетаїн та неіоногенна ПАР коко-глюкозид), які забезпечують ефективне очищення, піноутворення та м'яку дію на шкіру. Обговорено *сумісність компонентів з пробіотиками та постбіотиками* (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* спори, лізат *L. plantarum*).

Наведено методи досліджень зразків на антагоністичну активність мила (агар-дифузійний тест, метод лунок), життєздатності спор (метод підрахунку КУО) та антиоксидантну активності лізату (тест DPPH). Наведено перелік інструментальних методів, використаних в роботі.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1. Підбір пробіотичного компоненту для засобу для гігієни шкіри рук.

Огляд даних літератури, проведений в розділі I, виявив, що засоби для гігієни шкіри рук на основі пробіотиків і постбіотиків представляють перспективний напрямок у біотехнології та косметології, особливо в контексті зростання попиту на натуральні, мікробіом-дружні продукти. Традиційні антисептики (наприклад, на основі спирту чи триклозану) ефективно знищують патогени, але порушують природний баланс мікрофлори шкіри, що може призводити до сухості, подразнення та розвитку резистентності. На противагу цьому, комбінація живих спор бактерій роду *Bacillus* (пробіотики) та постбіотиків з лактобактерій (метаболіти, лізати, органічні кислоти) забезпечує конкурентне виключення патогенів, відновлення бар'єру шкіри та довготривалий захист без шкоди для корисної мікрофлори.

Ринок засобів для гігієни рук демонструє стійку тенденцію до переходу до застосування пробіотичних компонентів на заміну хімічним дезінфікуючим речовинам. Кількість подібних засобів для гігієни рук постійно збільшується в усьому світі, що свідчить про перспективність створення і вітчизняних продуктів.

Як пробіотичний компонент для засобу для гігієни рук у вигляді живих мікроорганізмів на основі огляду в розділі I запропоновано використання бактерій роду *Bacillus*. Ці бактерії, наприклад, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*) формують стійкі спори, які виживають у формулах мила та активуються на шкірі. Вони пригнічують патогени (*S. aureus*, *E. coli*, *C. acnes*) через бактеріоцини (сурфактин, субтилін тощо), конкурентне виключення та руйнування біоплівки. Антизапальні ефекти (зниження IL-6, IL-8, TNF- α) допомагають при сухості та подразненні від

частого миття. Дослідження показують зменшення запалення на 40–60% та відновлення мікробіому за 10 днів.

Як метаболітний пробіотичний компонент запропоновано введення до складу **постбіотиків з лактобактерій**. Метаболіти *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum* включають органічні кислоти (молочна, фенілмолочна), бактеріоцини та ферменти, які інгібують патогени (зниження на 99% для *E. coli*, *S. aureus*), посилюють захисний бар'єр шкіри, продукуючи кераміди, гіалуронову кислоту, та мають антиоксидантний ефект. Вони безпечніші, тому що не є живими організмами, стабільні в складі гігієнічних засобів та зменшують ризик алергії. На ринку відомі санітайзери з постбіотиками для мікробіом-захисту.

Така комбінація пробіотичних компонентів прогнозовано має синергетичну дію: живі бактерії роду *Bacillus* забезпечують довготривалий захист, постбіотики – швидку антимикробну дію.

Але при розробці нового засобу для гігієни рук з комбінованим пробіотичним компонентом треба ураховувати такі чинники:

- спори бактерій *Bacillus* стійкі, але рідкі засоби повинні мати рівень рН 4–6 та не містити консервантів, які можуть приводити до загибелі цих видів бактерій;
- слід ураховувати ризик алергії чи можливої контамінації. Тому треба використовувати тільки непатогенні штами). Також недоцільно використовувати засоби для відкритих ран;
- за сучасними вимогами в Україні та за рубежом (ЄС, США тощо) пробіотики для шкіри потребують GRAS-статусу; реєстраційні вимоги до постбіотиків простіші, але тестування на стабільність обов'язкове;
- на ринку присутні засоби та продукти відомих світових брендів, що складає конкуренцію вітчизняним виробникам, але завжди існує ніша для інновацій з потенціалом експорту.

Для визначення складу мікроорганізмів для рідкого мила для гігієни рук розглянуто пробіотичні компоненти, загальні характеристики яких наведено в розділі I та більш детальні - в табл. 3.1 [3, 4, 21,22, 26, 31].

Таблиця 3.1

Властивості пробіотичних компонентів для засобу для гігієни рук

Компонент	Штам /Тип	Концентрація	Функція	Обґрунтування
Пробіотики (живі спори)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	10 ⁶ –10 ⁷ КУО/мл (0,5–1%)	Антимікробна дія, руйнування біоплівки, антиінфламаторний ефект	Стійкий, пригнічує <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> ; використовується в РСНС-адаптаціях для шкіри.
	<i>Bacillus licheniformis</i> (ATCC 12759)	10 ⁶ КУО/мл (0,3–0,5%)	Підтримка бар'єру, зволоження	Виробляє сурфактин; зменшує сухість від миття.
	<i>Bacillus coagulans</i> (MTCC 5856)	10 ⁶ КУО/мл (0,3–0,5%)	Антиоксидантний захист, регенерація	Знижує ROS, покращує гідратацію; в кремах для акне.
	<i>B. amyloliquefaciens</i>	10 ⁶ КУО/мл (0,3–0,5%)	Антимікробна дія, посилення бар'єру, антиінфламаторний ефект, вплив на сигнальну систему NF-κB	Пригнічує <i>S. aureus</i> , <i>Proteus</i> , <i>Candida</i> ; використовується в РСНС-адаптаціях для шкіри
Пост-біотики (лізати/ферменти)	<i>Lactobacillus plantarum</i> (NY7714) лізат	2–3% (супернатант)	Антибактеріальна дія, посилення церамідів	Інгібування патогенів (99% для <i>E. coli</i>); в Lactosarcillus мила.
	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (GG) метаболіти	1–2% (органічні кислоти)	Антиінфламаторний, імуномодулятор	Знижує IL-8; в санітаїзерах для чутливої шкіри.
	<i>Lactobacillus fermentum</i> фермент	1% (бактеріоцини)	Антивірусна дія, загоєння	Руйнує вірусні оболонки; в постбіотичних кремах.

На основі проведеного аналізу запропоновано пробіотичний комплекс для засобу для гігієни рук - комбінація живих спор двох штамів бактерій роду *Bacillus* (*B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens*) для колонізації шкіри та постбіотиків з лактобактерій (лізату *L. plantarum*) для швидкого настання ефекта.

Цей склад повинен забезпечити ефективність (зниження патогенів на 80–99%), безпеку та сумісність з шкірою. Але необхідні тестування для підтвердження цих прогнозів.

3.2. Вибір складу засобу для гігієни шкіри рук на основі бактерій роду *Bacillus* та постбіотиків лактобактерій у вигляді рідкого мила.

Пропонований склад основних компонентів – комбінація спор *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens* та лізату *L. plantarum*. Концентрації базуються на даних літератури (10^6 – 10^7 КУО/мл для пробіотиків; 2–3 % для постбіотиків).

Склад пропонується готувати на основі, яка складає 80–90% та містить воду, зволожувач (гліцерин, пропіленгліколь), поверхнево-активні речовини (іоногенні та неіоногенні ПАВ). До основи доцільно додати ароматизатори (ефірні олії) в кількості до 1 %, сумісний з пробіотиками консервант (феноксіетанол, етилгексилгліцерин, бензиловий спирт), коректор рН (лимонна кислота).

З урахуванням даних літературних джерел та маркеплейсів рідких засобів для гігієни рук, наукових даних про сумісність інгредієнтів, стабільність рецептур, безпеку для шкіри та ефективність, з урахуванням сумісності ПАВ та інших компонентів з бактеріями роду *Bacillus* та спорами, а також рекомендацій фахівців ТОВ НВП Еко-Країна (м. Полтава) сформовано склад рідкого мила для гігієнічної дезінфекції шкіри з назвою «BacilloPlant Clean Hands», який наведено в таблиці 3.2.

Запропонований склад є типовим для рідкого мила, орієнтованого на гігієну рук з антимікробним ефектом пробіотичних компонентів через

конкурентне виключення патогенів, збереження мікробіому шкіри та постбіотичну дію.

Таблиця 3.2

Склад рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands»

Компонент	Кількість КУО /Масова частка, %	Функція компонента
<i>B. subtilis</i> (спори)	Не менше 5×10^7 КУО/г	Пробіотик (конкурентне витіснення патогенів, виробляє субтилін, бациліцин, зменшення запалення, відновлення бар'єру)
<i>B. amyloliquefaciens</i> (спори)	Не менше 5×10^7 КУО/г	Пробіотик (антагоністична дія проти <i>S. aureus</i> , <i>Cutibacterium acnes</i> , <i>Proteus</i> , <i>Candida</i> ;; посилення бар'єру, протизапальний ефект, вплив на сигнальну систему NF-κB, ферменти, зволоження)
Лізат <i>L. plantarum</i>	3,0	Постбіотик (принічення патогенів, посилення церамідів, зменшення запалення та відновлення бар'єру, джерело органічних кислот, бактеріоцинів, ферментів та екзополісахаридів)
Лаурилсульфат натрію (іоногенна ПАР)	5,00	Основний миючий агент, піноутворення
Кокамідопропіл-бетаїн (неіоногенна ПАР)	6,00	М'який спів-ПАР, знижує подразнення від лаурилсульфату
Коко-глюкозид (неіоногенна ПАР)	5,00	Натуральний м'який ПАР, біорозкладний, сумісний з пробіотиками.
Лимонна кислота	0,30	Регулятор рН (5,5–6,5), хелатор
Фенілетанол	0,50	Консервант, запобігання мікробному забрудненню, натуральний, без значного ризику подразнення, ефективний проти грибків/бактерій у пробіотичних формулах, м'який ароматизатор, розчинник для ефірних олій, сприяє м'якості шкіри
Ефірна олія чайного дерева	0,30	Ароматизатор
Гліцерин	8,00	Зволожувач шкіри
Вода очищена	до 100,0	Розчинник

Спори *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens* в стандартній концентрації для пробіотичних засобів забезпечують стабільність (спори стійкі до температури та рН) і антимікробну дію (пригнічення патогенів через бактеріоцини та ферменти). Вони сумісні з топічними косметичними та гігієнічними засобами.

Лізат *L. plantarum* в оптимальній концентрації (використосують 0,5–5% постбіотиків у косметиці). Забезпечує антиоксидантний, протизапальний ефект та посилення бар'єру шкіри без ризиків для живих бактерій. Сумісний з рН 3,5–6,5.

Склад збалансований за вмістом ПАР для піноутворення, зволожувача для запобігання сухості, консерванта для стабільності. рН регулюється лимонною кислотою (близько 5–6, що добре для шкіри та пробіотиків). Ефірна олія чайного дерева додає натуральний антимікробний ефект (проти *S. aureus*, *E. coli*), сумісна з пробіотиками.

Мило може мати термін придатності не менше 1 року за умови правильного зберігання.

3.3 Приготування та контроль зразків рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands».

Приготування зразків рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands» проводили за технологією, яка базується на методах емульгування та змішування фаз у лабораторних умовах. Технологія враховує чутливість біоактивних компонентів (спор *Bacillus* та лізату *L. plantarum*) до температури, рН та механічного впливу, тому їх вводили на пізніх стадіях приготування. Проводили процес у асептичних умовах – в ламінарній шафі класу II для біотехнологічних робіт.

Стадія 1. Підготовка матеріалів та обладнання.

Воду очищену стерилізували автоклавуванням при 121 °С, 15 хв.

Зважували всі компоненти з точністю до 0,01 г на аналітичних вагах Radwag AS 220.R2 (d=0.0001 г).

Зі спор *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens* готували суспензії в 20 мл фізіологічного розчину з розрахованою кількістю для досягнення вмісту не менше 5×10^7 КУО/г кожної в готовому продукті.

Використовували лізат *L. plantarum*, отриманий шляхом ультразвукової дезінтеграції клітин *L. plantarum* з подальшим центрифугуванням, з концентрацією білків та метаболітів 3 %.

Стерилізували обладнання: мішалку, скляні ємності, шпателі тощо автоклавували або оброблювали 70% етанолом.

Контроль на стадії (методики наведено в розділі 2):

- життєздатність спор *Bacillus* в суспензії методом посіву на живильне середовище (див. розділ 2). Визначали кількість КУО/г для кожного штаму: має бути $2,5 \times 10^8$ КУО.

- антимікробну активність лізату визначали методом дифузії в агарі проти тест-штамів *S. aureus*. Зона пригнічення має бути не менше 10 мм.

Стадія 2. Приготування водної фази та розчинення ПАР.

На стадії створювали базову емульсію для рівномірного розподілу компонентів.

1. У стерильному скляному стакані на магнітній мішалці з підігрівом нагрівали 70–80 мл води очищеної до 40–45 °С.

2. Додавали 8,00 г гліцерину та перемішували до повного розчинення (200–300 об/хв, 5–10 хв).

3. Послідовно додавали наважки ПАР: лаурилсульфат натрію 5,00 г, кокамідопропіл бетаїн 6,00 г, коко-глюкозид 5,00 г. Перемішували 10–15 хв до утворення однорідної емульсії (100–200 об/хв).

4. Змішували 0,50 г фенілетанолу та 0,30 г ефірної олію чайного дерева до однорідності та суміш додавали до основного розчину. Перемішували 5 хв для емульгування.

5. Суміш охолоджували до 25–30 °С на водяній бані з льодом.

6. Додавали наважку лимонної кислоти 0,30 г. Перемішували 5 хв до розчинення.

Зовнішній вигляд емульсії: однорідна рідина з легким ароматом чайного дерева, без осаду, без розшарування.

Стадія 3. Внесення біоактивних компонентів.

1. У охолоджену емульсію додавали 3,00 г лізату *L. plantarum* (3,00 г), перемішували 5–10 хв на швидкості 100–200 об/хв для рівномірного розподілу.

2. Додавали суспензії спор *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens*, перемішували 5 хв.

3. Додавали воду очищену до 100,00 г та перемішували 10 хв.

Контроль рН: має бути 5,0–6,0. При необхідності корегували додаванням розчином лимонної кислоти 20%, додавали порціями по 0,5 мл з перемішуванням 2 хв після кожної.

5. Перемішували всю суміш ще 10–15 хв для стабілізації.

Стадія 4. Фільтрація.

1. Фільтрували суміш через простерилізований мембранний фільтр з рейтингом пір 0,8 мкм для видалення нерозчинних домішок.

2. Наповнювали стерильні флакони з дозатором.

Умови зберігання: 4–8 °С.

Витримували 24 год для стабілізації перед тестуванням.

За методикою було приготовано 3 серії зразків по 100 мл.

Запропоновано перелік показників якості для продукту та межі прийнятності, що базується на стандартах косметичних засобів (наприклад, ДСТУ EN 12353:2022 для антимікробної активності, Державна Фармакопея України для методів контролю) та враховує біотехнологічні аспекти (стабільність спор та постбіотиків). Перелік наведено в таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

Перелік показників якості для рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands»

Показник якості	Межі прийнятності	Методи контролю	Примітки
1	2	3	4
Зовнішній вигляд	Однорідна,	Візуальний	Контроль за ДСТУ 5009.

Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4
	напівпрозора або прозора рідина без осаду, грудок чи розшарування; можлива легка опалесценція через ПАР		Перевіряти після приготування та через 24 год.
Колір	Безбарвний або злегка жовтуватий (від олії чайного дерева)	Візуальне порівняння з еталоном або спектрофотометрія.	Можлива зміна через окислення.
Запах	Характерний для олії чайного дерева, без сторонніх запахів (гіркоти, плісняви)	Органолептична оцінка	Забезпечує привабливість продукту. Контроль для виявлення деградації.
pH	5,0–6,0	Потенціометричний. Розведення проби 1:10	Оптимальний для стабільності спор <i>Bacillus</i> (не нижче 4,5 для уникнення інактивації) та лізату <i>L. plantarum</i> ; сумісний з pH шкіри (4,5–6,5). Метод за ДФУ(розділ 2.2.3). Контроль після приготування та під час зберігання.
В'язкість	500–2000 мПа·с при 25 °C	Вимірювання ротаційним віскозиметром	Забезпечує зручність використання (не надто рідке/густе). Метод за ISO 2555:2018. Контроль для стабільності емульсії.
Антимікробна активність	Зона пригнічення росту тест-штамів ≥ 15 мм (для <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i>); логарифмічне зниження мікробів $\geq 2 \log_{10}$ після 5 хв контакту.	Агар-дифузійний метод або суспензійний тест (EN 1276 для бактерицидної активності); тест-штами з АТСС.	Підтверджує дезінфікуючу дію (спори + лізат + олія чайного дерева). Метод за Наказом МОЗ України №2024 від 03.09.2020 та EN 13624/EN 13727. Контроль на свіжому продукті та після зберігання.

Продовження таблиці 3.3

1	2	3	4
Життєздатність спор (для <i>B. subtilis</i> та <i>B. amyloliquefaciens</i> окремо)	Не менше 5×10^7 КУО/г для кожного штаму; зниження не більше 10% після 6 міс зберігання.	Підрахунок КУО методом посіву на триптон-соєвий агар; серійні розведення проби	Забезпечує ефективність пробіотичного ефекту. Метод за ДСТУ EN 12353:2022 та ISO 4833-1:2013. Контроль на початку, через 1, 3, 6 міс.
Мікробіологічна чистота	Загальна кількість мікроорганізмів $\leq 10^2$ КУО/г; відсутність патогенів (<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>E. coli</i>).	Посів на селективні середовища	Виявлення контамінації; обов'язковий для гігієнічних засобів. Метод за ISO 21149 та ДСТУ EN 12353:2022. Контроль після приготування.
Термін придатності	Не менше 12 місяців при 4–25 °С у закритій тарі.	Реальний тест стабільності (зберігання при кімнатній температурі, контроль КУО та рН щомісяця)	Базується на стабільності спор та консервантів. Метод за ICH Q1E.

Результати контролю зразків трьох серій за рядом показників представлено в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Результати контролю зразків серій 1-3

Показник	Критерії прийнятності	Результати		
		Серія 1	Серія 2	Серія 3
Зовнішній вигляд	Однорідна, напівпрозора або прозора рідина без осаду, грудок чи розшарування; можлива легка опалесценція через ПАР	Однорідна прозора рідина без осаду	Однорідна прозора рідина без осаду	Однорідна прозора рідина без осаду
Колір	Безбарвний або злегка жовтуватий (від олії чайного дерева); стабільний під час зберігання	Безбарвний	Безбарвний	Безбарвний

Продовження таблиці 3.4

1	2	3	4	5
Запах	Характерний для олії чайного дерева, без сторонніх запахів (гіркоти, плісняви)	Характерний для олії чайного дерева	Характерний для олії чайного дерева	Характерний для олії чайного дерева
pH	5,0–6,0	5,50	5,47	5,52
Життєздатність спор <i>Bacillus</i> *	Не менше 5×10^7 КУО/г для кожного штаму: <i>B. subtilis</i> <i>B. amyloliquefaciens</i>	$(5,3 \pm 0,2) \times 10^7$ $(5,4 \pm 0,3) \times 10^7$	$(5,2 \pm 0,3) \times 10^7$ $(5,4 \pm 0,2) \times 10^7$	$(5,5 \pm 0,2) \times 10^7$ $(5,2 \pm 0,2) \times 10^7$
Анти-мікробна активність	Зона пригнічення росту тест-штамів ≥ 15 мм: для <i>S. aureus</i> для <i>E. coli</i> для <i>P. aeruginosa</i>	$25,6 \pm 1,2$, $23,4 \pm 1,5$, $21,8 \pm 1,3$	$24,6 \pm 1,3$, $22,8 \pm 1,4$, $21,1 \pm 1,3$	$26,0 \pm 1,2$, $23,8 \pm 1,3$, $22,3 \pm 1,2$
Мікробіологічна чистота	Загальна кількість мікроорганізмів $\leq 10^2$ КУО/г; відсутність патогенів (<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>E. coli</i>)	$< 10^2$ КУО/г	$< 10^2$ КУО/г	$< 10^2$ КУО/г

Примітка. * - розрахункові значення на основі початкового внесення.

Для підтвердження вибраного складу пробіотичних компонентів (спор *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens* та лізату *Lactobacillus plantarum*) було проведено серію досліджень. Ці експерименти фокусувалися на оцінці ефективності засобу - антагоністичній активності, життєздатності спор *Bacillus*, антиоксидантної активності лізату *L. plantarum*, синергетичному ефекті комбінації компонентів.

3.4 Визначення антагоністичної активності пробіотичних компонентів проти патогенів.

Для доведення ефективності запропонованої комбінації для гігієни досліджено здатність спор *Bacillus* та лізату *L. plantarum* пригнічувати ріст

патогенів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*. У цей спосіб обґрунтовували вибір пробіотичних складових для дезінфекційних засобів у джерелах [8, 13, 22].

Антагоністичну активність визначали методом дифузії в агарі проти тест-штамів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*. Методику наведено в розділі 2.

Тестування проводили на зразках серії 1 та модельних зразках, приготованих за методикою, наведеною в п. 3.3. Склади модельних зразків вказано в табл. 3.5. Проводили паралельне тестування окремих компонентів (в складі модельних зразків) та в комбінації (серія 1) для виявлення синергії, в триразовому повторенні. Результати досліджень наведено в таблиці 3.5.

Таблиця 3.5.

Результати визначення антагоністичної активності спор *Bacillus* та лізату *L. plantarum*

Зразок мила	Діаметр зони пригнічення росту, мм (середнє ± SD, n=3)		
	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)
Контрольне мило (без пробіотиків)	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Мило + спори <i>Bacillus subtilis</i> (5×10 ⁷ КУО/г)	18,2 ± 1,1	15,7 ± 0,9	14,3 ± 1,2
Мило + спори <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (5×10 ⁷ КУО/г)	19,5 ± 0,8	16,4 ± 1,0	15,1 ± 0,7
Мило + лізат <i>Lactobacillus plantarum</i> (3%)	14,8 ± 1,3	17,2 ± 1,4	12,9 ± 1,1
Мило з усіма компонентами (комбінація) серія 1	25,6 ± 1,2	23,4 ± 1,5	21,8 ± 1,3

В контрольному зразку мила (без пробіотичних компонентів) не виявлено антагоністичної активності проти жодного з тест-штамів — зони пригнічення відсутні. Окремо взяті компоненти продемонстрували помітну антимікробну дію:

Зразок з *B. subtilis* — сильніше діє проти грампозитивного *S. aureus*.

Зразок з *B. amyloliquefaciens* — трохи ефективніший проти всіх тест-штамів порівняно з *B. subtilis*.

Зразок з лізатом *L. plantarum* найкраще пригнічував *E. coli* (ймовірно, завдяки органічним кислотам та бактеріоцинам).

Комбінований зразок виявив виражену синергію: діаметр зон пригнічення на 30–50% більший, ніж у окремих компонентів. Це підтверджує доцільність саме такої комбінації для підвищення ефективності дезінфекції шкіри рук.

3.5. Оцінка життєздатності спор *Bacillus* під час зберігання.

Для підтвердження стабільності спор *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens* у формулі мила при зберіганні контролювали свіжоприготовані зразки мила серії 2 та контрольний зразок (без спор), приготований за методикою, наведеною в п. 3.3.

Зразки було закладено на зберігання при кімнатній температурі (20–25 °С), вологості 40–60% (у герметичних флаконах). У цей спосіб обґрунтовували вибір спор як стійких пробіотиків у джерелах [26, 31].

Дослідження вели методом підрахунку КУО. Методику наведено в розділі 2. Тестували з періодичністю: 0, 1, 3, 6 місяців.

Окремий підрахунок життєздатності кожного штаму проводився на основі початкового внесення та загального зниження кількості КУО *Bacillus spp.* у зразку, оскільки диференціація на неспецифічному агарі неможлива без використання вид-специфічних середовищ або молекулярних методів.

Результати досліджень (розрахункові значення на основі початкового внесення та загального зниження) наведено в табл. 3.6.

Контрольне мило (без пробіотичних компонентів) протягом усього періоду зберігання не містило життєздатних спор *Bacillus* (рівень $<10^2$ КУО/г відповідає вимогам мікробіологічної чистоти гігієнічних засобів). Зразок з усіма компонентами демонструє високу стабільність спор:

- початковий рівень відповідає заданій нормі (не менше 5×10^7 КУО/г для кожного штаму).

- зниження життєздатності за 6 місяців не перевищує 10% (максимальне зниження — 9,3% для *B. amyloliquefaciens*).

Таблиця 3.6

**Результати оцінки життєздатності спор *Bacillus* під час зберігання
(6 міс.)**

Зразок мила	Час зберігання	Життєздатність спор, КУО/г (середнє ± SD, n=3)		Зниження від початкового значення, %
		<i>B. subtilis</i>	<i>B. amyloliquefaciens</i>	
Контрольне мило (без пробіотиків)	0 міс	<10 ²	<10 ²	—
	1 міс	<10 ²	<10 ²	—
	3 міс	<10 ²	<10 ²	—
	6 міс	<10 ²	<10 ²	—
Мило з усіма компонентами (комбінація) серія 2	0 міс (після приготування)	(5,2±0,3)×10 ⁷	(5,4±0,2)×10 ⁷	0 (базовий рівень)
	1 міс	(5,1±0,2)×10 ⁷	(5,3±0,3)×10 ⁷	1,9 / 1,9
	3 міс	(4,9 ±0,3)×10 ⁷	(5,1±0,2)×10 ⁷	5,8 / 5,6
	6 міс	(4,8±0,2)×10 ⁷	(4,9±0,3)×10 ⁷	7,7 / 9,3

Обидва штами зберігають високий рівень життєздатності ($\geq 4,8 \times 10^7$ КУО/г), що підтверджує стійкість спор *Bacillus* у розробленій формулі мила навіть за умови присутності ПАР, консервантів та ефірної олії. Зниження життєздатності не перевищує 10%, що відповідає вимогам ефективності пробіотичного компонента.

Це підтверджує доцільність використання саме спорових форм *Bacillus* у формулі, оскільки вони стійкі до умов зберігання, консервантів (фенілетанол) та поверхнево-активних речовин, на відміну від вегетативних клітин інших пробіотиків.

3.6 Визначення антиоксидантної активності лізату *L. plantarum*.

Для підтвердження захисного ефекту лізату проти оксидативного стресу для шкіри рук проводили методом DPPH-радикального захоплення. Методику наведено в розділі 2.

Тестування проводили на зразках серії 3 та модельних зразках, приготованих за методикою, наведеною в п. 3.3.: контрольний зразок (без пробіотичних компонентів), зразок з лізатом без додавання спор. Зразки розводили водою очищеною у співвідношенні 1:10. Проводили паралельне тестування підготованих модельних зразків та зразків серії 3, в триразовому повторенні. Результати досліджень наведено в табл. 3.8.

Визначали відсоток пригнічення DPPH-радикалу та IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%) — концентрацію досліджуваного зразка, при якій пригнічення DPPH-радикалу становить 50% від максимального можливого значення.

IC_{50} є одним з найпоширеніших показників антиоксидантної активності в біохімії та фармації. Чим нижче значення IC_{50} , тим сильніший антиоксидант (речовина ефективніше захоплює вільні радикали навіть у низьких концентраціях) [3, 9, 14, 32].

Для визначення IC_{50} готували додатково розведення 1:5, 1:20, 1:50 та 1:100. Результати вимірювань для зразка мила серії 3 наведено в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

Результати вимірювань відсоток пригнічення DPPH-радикалу в зразках серії 3

Розведення	Концентрація лізату, мг/мл	ВП% (середнє \pm SD, n=3)
1:100	0,3	18
1:50	0,6	35
1:20	1,5	48
1:10	3,0	68
1:5	6,0	85

За отриманими зразками побудовано графік (рис. 3.1), на якому визначено значення IC_{50} .

Аналогічно були побудовані графіки для контрольного зразку (без пробіотичних компонентів) та зразку з лізатом без додавання спор. Отримані дані представлено в табл. 3.8.

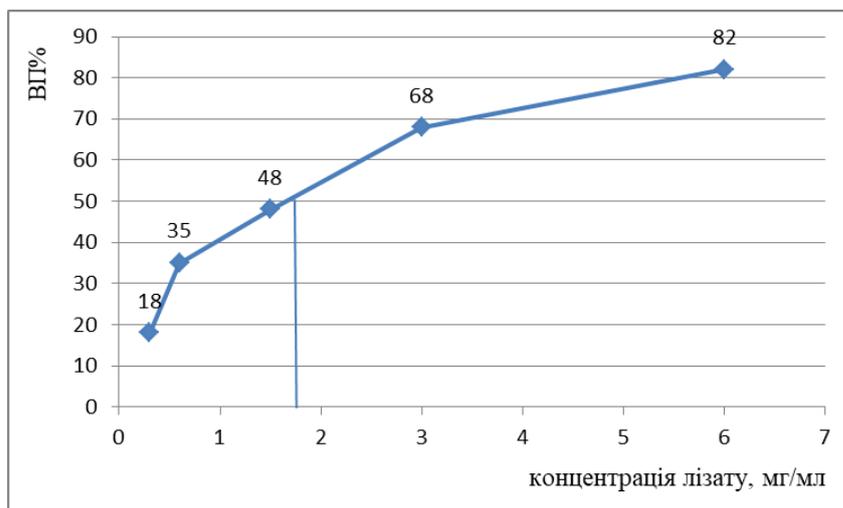


Рис. 3.1. Крива залежності відсотку пригнічення DPPH-радикалу від концентрації лізату для зразка серії 3.

Таблиця 3.8

Результати визначення антиоксидантної активності лізату *L. plantarum*

Зразок мила	Розведення	% пригнічення DPPH-радикалу (середнє \pm SD, n=3)	IC ₅₀ (мг/мл) – концентрація, при якій пригнічення 50%
Контрольне мило (без пробіотиків)	1:10	3,2 \pm 0,8	>50 (практично відсутня активність)
Мило + лізат <i>Lactobacillus plantarum</i> (3%)	1:10	68,4 \pm 2,1	4,2 \pm 0,3
Мило з усіма компонентами серія 3	1:10	82,7 \pm 1,9	1,8 \pm 0,2

Контрольне мило (без пробіотичних компонентів) показує лише незначне пригнічення DPPH (3–5%), зумовлене ефірною олією чайного дерева та іншими допоміжними речовинами. Зразок з лізатом *L. plantarum* окремо демонструє помітну антиоксидантну активність (~68% при 1:10 розведенні), що обумовлено вмістом органічних кислот, пептидів та фенольних сполук та відповідає літературним даним для постбіотиків *Lactobacillus* (зазвичай 60–85% у концентраціях 1–5 мг/мл). Зразок серії 3 показує значне зростання активності — до 82–83% пригнічення та зниження IC₅₀ з 4,2 до 1,8 мг/мл. Це свідчить про синергетичний ефект між

метаболітами лізату (органічні кислоти, пептиди, фенольні сполуки) та ферментами та метаболітами спор *Bacillus* (екзополісахариди, антиоксидантні пептиди тощо), що посилюють захоплення вільних радикалів та доводить роль лізату в захисті шкіри від сухості/запалення.

Отже, дослідження антагоністичної активності зразків мила, життєздатності спор *Bacillus*, антиоксидантної активності лізату *L. plantarum* підтверджують ефективність вибраного складу пробіотичних компонентів (спор *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* та лізату *L. plantarum*) та доводять синергетичний ефект комбінації компонентів.

3.6. Напрями подальших досліджень.

Для запропонованого рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands» необхідні подальші дослідження для підтвердження безпеки, ефективності та комерційного потенціалу. Вони дозволять оптимізувати продукт для ринку, враховуючи вимоги регуляторних документів.

1. Необхідно дослідити збереження життєздатності спор *Bacillus* та активності лізату *L. plantarum* при зберіганні не менше 12 місяців, оскільки в складі є ПАР та консерванти, які можуть впливати на стабільність. Це дозволить підтвердити стійкість складу, дозволить подати на сертифікацію засобу.
2. Визначити подразнювальну дію на шкіру, оскільки пробіотики та ПАР (наприклад, лаурилсульфат) можуть викликати сухість або алергію, особливо у чутливих груп (діти, люди з atopічним дерматитом). Дослідження можуть бути проведені *in vivo* на добровільцях та *in vitro* на людських клітинних лініях (МТТ-тест). За результатами можна довести безпеку для щоденного використання або позиціонувати як гіпоалергенний.
3. Пробіотики забезпечують конкурентне виключення патогенів, але важливо перевірити тривалість ефекту після миття рук (наприклад, проти *S. aureus*). Підтвердження тривалого захисту продемонструє переваги над

хімічними антисептиками, які швидко випаровуються, та дасть переваги для маркетингу.

4. Для доведення терапевтичного потенціалу доцільно проведення клінічних випробувань ефективності, оцінка реального впливу на мікробіом шкіри та здоров'я (наприклад, зменшення сухості, запалення).
5. Для «зеленого» позиціонування продукту, відповідно до EU Ecolabel доцільна екологічна оцінка продукту через тест на біорозкладність або аналіз впливу на водні організми. Це обумовлено тим, що пробіотики екологічні, але ПАР можуть забруднювати воду. Позитивні результати будуть привабливими для свідомих споживачів.

Подальші дослідження також можуть бути спрямовані на удосконалення складу для підвищення безпеки, ефективності та адаптації до різних категорій споживачів. Основні пропозиції такі:

Заміна лаурилсульфат натрію на лауретсульфат натрія, який менш агресивний (додає етерифікацію, зменшує подразнення на 30–50%, знижує ризик сухості), але зберігає піноутворення. Доцільно для людей з чутливою шкірою або дітей [18, 19].

Заміна лаурилсульфату натрію на децил глюкозид - натуральний, неіоногенний ПАР з кокосу або кукурудзи, біорозкладний, гіпоалергенний (подразнення не частіше 5%). Підходить для екологічної лінії або алергіків. Покращує сумісність з пробіотиками, зменшує TEWL (транспідермальну втрату вологи) [11, 18].

Додавання пребіотиків, наприклад, інуліну, який живить корисні бактерії на шкірі, посилює синбіотичний ефект з *Bacillus* (збільшує бар'єр на 20–30%). Доцільно для людей із сухістю шкіри або atopічним дерматитом [5, 18, 19].

Зробити коригування складу, щоб оптимізувати для різних груп споживачів. Наприклад, додати емоменти (створюють захисну плівку на поверхні шкіри, як алое вера) — для людей з сухою шкірою. Або зменшити концентрацію ефірної олії чайного дерева для чутливих споживачів, або

замінити на іншу, менш алергенну олію (лаванду тощо). Для дітей можна видалити зі складу ефірні олії та замінити лаурилсульфат натрію на лауретсульфат натрія. Для спортсменів — додати більше лізату для посилення антимікробної дії.

3.7. Перспективи практичного використання рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands».

Нами проаналізовано основні цільові групи та напрями використання запропонованого продукту та представлено у вигляді табл. 3.9.

Таблиця 3.9

Цільові групи та напрями використання мила «BacilloPlant Clean Hands»

Цільова група / Спосіб використання	Обґрунтування доцільності	Переваги порівняно з класичними засобами (спирт, антисептики)
1	2	3
Медичний персонал (лікарі, медсестри, санітарки) / заміна звичайного мила	Високий ризик нозокоміальних інфекцій, часте миття рук приводить до порушення мікробіому шкіри, сухості, дерматів	Залишковий пробіотичний захист після миття, зменшення сухості, зниження колонізації патогенами
Пацієнти стаціонарів (обробка шкіри перед операціями, догляд за післяопераційними ранами, гігієна лежачих хворих) / Замість звичайного мила або як доповнення	Профілактика інфекцій у місцях введення катетерів, пролежнів, післяопераційних швів	Не порушує захисний мікробіом, сприяє загоєнню, зменшує ризик суперінфекції
Догляд за літніми людьми (будинки престарілих, паліативна допомога) / Щоденне миття рук і тіла	Сухість шкіри, знижений імунітет, часті інфекції шкіри (імпетиго, фолікуліти)	Зволоження + антиоксидантний ефект + конкурентне виключення патогенів
Люди з atopічним дерматитом, екземою, чутливою шкірою / як м'яке очищення	Традиційні антисептики часто погіршують стан (сухість, подразнення, дисбіоз)	Підтримка бар'єрної функції, зменшення запалення, відновлення мікробіому
Діти (від 3 років, після адаптації формули) / після вулиці, перед їжею, у школі/садочку	Часті інфекції шкіри, чутливість до спирту та агресивних ПАР	М'яка дія, профілактика без порушення мікробіому

1	2	3
Працівники харчової промисловості, громадського харчування / часте миття рук	Вимоги до гігієни рук дуже високі, але спиртові засоби викликають сухість і тріщини	Тривалий залишковий ефект проти патогенів, збереження цілісності шкіри
Спортсмени, фітнес-центри, басейни / Після тренування, після басейну	Частий контакт з поверхнями, піт, мікротравми спричиняють ризик фолікуліту, бородавок, грибків	Профілактика шкірних інфекцій та зволоження після душу
Домашнє використання (звичайні люди) / Щоденне миття рук	Зростає попит на натуральні, мікробіом-дружні засоби гігієни	Альтернатива агресивним антисептикам, особливо в період ГРВІ/грипу
Подорожі, громадський транспорт, офіси / 3–10 разів на день	Високий ризик передачі інфекцій через руки, обмежений доступ до води	Можливість використання без води (як пінка або з мінімальним змиванням)
Ветеринарна практика (догляд за тваринами, обробка рук персоналу) / Після контакту з тваринами	Контакт з патогенами тварин (дерматофіти, стафілококи), ризик зоонозів	Широкий спектр антимікробної дії, безпечність для шкіри

Найвищий потенціал впровадження рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands» передбачається в медичних закладах та у споживачів з чутливою або проблемною шкірою, де традиційні антисептики часто викликають побічні ефекти, а пробіотичний склад забезпечить не лише дезінфекцію, але й відновлення та захист природного мікробіому шкіри.

Висновок до розділу 3:

На основі даних огляду літератури (розділ 1) проведено підбір пробіотичного компоненту для засобу для гігієни шкіри рук, обговорено доцільність та проблеми розробки засобу. Запропоновано пробіотичний комплекс для засобу для гігієни рук - комбінація живих спор двох штамів бактерій роду *Bacillus* (*B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens*) для колонізації

шкіри та постбіотиків з лактобактерій (лізату *L. plantarum*) для швидкого настання ефекта. Сформовано склад рідкого мила для гігієнічної дезінфекції шкіри та обґрунтовано введення кожного компонента. Запропоновано технологію отримання та приготовано зразки рідкого мила та модельні суміші для досліджень. Запропоновано перелік показників якості для продукту та межі прийнятності, що відповідають стандартам косметичних засобів та враховують біотехнологічні аспекти. Перевірено основні показники для дослідних серій. Досліджено антагоністичну активність, життєздатність спор під час зберігання та антиоксидантну активність лізату. Виявлено високу ефективність комбінованого складу проти *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, стабільність спор (зниження $\leq 9,3\%$ за 6 місяців) та виражену антиоксидантну дію ($IC_{50} = 1,8$ мг/мл). З'ясовано, що комбінація спор *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* та лізату *L. plantarum* забезпечує синергетичну дію: конкурентне виключення патогенів, антиоксидантний та протизапальний ефекти, підтримку бар'єрної функції шкіри. Отримані результати свідчать про перспективність продукту для гігієни рук. Окреслено напрями подальших досліджень для підтвердження безпеки, ефективності та підвищення комерційного потенціалу для різних категорій споживачів. Спрогнозовано напрями застосування продукту, найбільш важливими з яких є використання в медичних закладах, для людей з чутливою або проблемною шкірою та для повсякденної гігієни.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано дані наукової та довідкової літератури, з яких з'ясовано перспективність пробіотичних та постбіотичних засобів для гігієни шкіри рук як екологічної альтернативи хімічним антисептикам, що порушують мікробіом та викликають сухість і резистентність.
2. Обґрунтовано вибір комбінації спор *B. subtilis* та *B. amyloliquefaciens* як стійких пробіотиків для довготривалого захисту та лізату *L. plantarum* як постбіотика для швидкої антимікробної та протизапальної дії.
3. Досліджено властивості основних компонентів запропонованого засобу: спори *Bacillus* мають статус безпечності, високу стійкість, антимікробну та протизапальну активність; лізат *L. plantarum* містить органічні кислоти, бактеріоцини, пептиди та супероксиддисмутазу, забезпечуючи безпеку та синергію з пробіотиками.
4. Обґрунтовано додавання допоміжних речовин: фенілетанолу як антимікробного консерванту, олії чайного дерева як ароматизатора, аніонних та неіоногенних поверхнево-активних речовин лаурилсульфата натрію, кокамідопропіл бетаїну та коко-глюкозиду, які забезпечують ефективне очищення, піноутворення та м'яку дію на шкіру.
5. Запропоновано технологію отримання рідкого мила з по біотичними компонентами та приготовано зразки та модельні суміші для досліджень. Запропоновано перелік показників якості для продукту та межі прийнятності,
6. Підібрано та адаптовано методи досліджень: агар-дифузійний тест для антагоністичної активності, підрахунок КУО для життєздатності спор, DPPH-тест для антиоксидантної дії лізату, визначення мікробіологічної чистоти.
7. Виявлено високу ефективність комбінованого складу: зони пригнічення патогенів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* 21,8–25,6 мм, зниження спор не

більше 9,3 % за 6 місяців, $IC_{50} = 1,8$ мг/мл, підтверджено синергетичну дію компонентів.

8. Окреслено перспективи: подальші дослідження стабільності при зберіганні, подразнювальної дії, залишкової антимікробної активності, клінічні випробування, екологічна оцінка та оптимізація складу.
9. Отримані результати свідчать про перспективність рідкого мила «BacilloPlant Clean Hands» для медичних закладів, людей з чутливою шкірою та повсякденної гігієни.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Application of probiotic cleaners in surface disinfection. URL: <https://www.hartmann-science-center.com/en/hygiene-knowledge/surface-hygiene/surface-cleaning/application-of-probiotic-cleaners-in-surface-disinfection> (Date of access: 19.11.2025).
2. Can probiotics trigger a paradigm shift for cleaning healthcare environments? A narrative review / L. A. Denkel et al. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2024. Vol. 13(1). P. 119. DOI: 10.1186/s13756-024-01474-6.
3. De Almeida C. V., Antiga E., Lulli M. Oral and Topical Probiotics and Postbiotics in Skincare and Dermatological Therapy: A Concise Review. *Microorganisms*. 2023. Vol. 11(6). P. 1420. DOI: 10.3390/microorganisms11061420.
4. Efficacy of Probiotic Supplements and Topical Applications in the Treatment of Acne: A Scoping Review of Current Results / I. A. M. P. Sutema et al. *J. Exp. Pharmacol*. 2025. Vol. 17. P. 1–14. DOI: 10.2147/JEP.S498769.
5. Formulation and assessment of a probiotic-infused anti-aging cream: Harnessing the synergy of prebiotics and probiotics for skin revitalization / S. Mallepelli et al. *World Journal of Biology Pharmacy and Health Sciences*. 2025. Vol. 22(03). P. 575–583. DOI: 10.30574/wjbphs.2025.22.3.0632.
6. França K. Topical Probiotics in Dermatological Therapy and Skincare: A Concise Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2021. Vol. 11(1). P. 71–77. DOI: 10.1007/s13555-020-00476-7.
7. Role of Nutriotics in Skin Care / M. L. Mourelle et al. *Applied Sciences*. 2024. Vol. 14(8), 3505. <https://doi.org/10.3390/app14083505>.
8. Impact of a Probiotic-Based Cleaning Intervention on the Microbiota Ecosystem of the Hospital Surfaces: Focus on the Resistome Remodulation / E. Caselli et al. *PLoS ONE*. 2016. Vol. 11(2). P. e0148857. DOI: 10.1371/journal.pone.0148857.

9. Ma'or Z., Temmerman R., Zhang X. Topical Application of Synbiotic Bacillus Preparations Positively Affects Skin (Micro) Biology. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*. 2023. Vol. 13. P. 107-123. doi: 10.4236/jcdsa.2023.132011.
10. Knackstedt R., Knackstedt T., Gatherwright J. The role of topical probiotics in skin conditions: A systematic review of animal and human studies and implications for future therapies. *Exp. Dermatol.* 2020. Vol. 29(1). P. 15–21. DOI: 10.1111/exd.14032.
11. Kurzekar N. K., Wasule D. D. «Probiotics» In Skin Care Products- A Review. *International Journal for Research Trends and Innovation*. 2018. Vol. 3(10). P. 166–170. URL: <http://www.ijrti.org/papers/IJRTI1810028.pdf> (Date of access: 19.11.2025).
12. Mejía-Caballero A., Marco M. L. Lactobacilli biology, applications and host interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2025. DOI: 10.1038/s41579-025-01205-7.
13. Potential of an Eco-Sustainable Probiotic-Cleaning Formulation in Reducing Infectivity of Enveloped Viruses / M. D'Accolti et al. *Viruses*. 2021. Vol. 13(11). P. 2227. DOI: 10.3390/v13112227.
14. Probiotic effects on skin health: comprehensive visual analysis and perspectives / K. Deng et al. *Front Microbiol.* 2024. Vol. 15. P. 1453755. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1453755.
15. Probiotic-Based Approaches for Sustainable Control of Infectious Risk in Mass Transport: Current Data and Future Perspectives / I. Soffritti et al. *Microbial Biotechnology*. 2025. Vol. 18(6). P. 70177. DOI: 10.1111/1751-7915.70177.
16. Probiotic-Based Cleaning Solutions: From Research Hypothesis to Infection Control Applications / M. E. Falagas et al. *Biology (Basel)*. 2025. Vol. 14(8). P. 1043. DOI: 10.3390/biology14081043.
17. Probiotic-Based Sanitation System for the Reduction of Healthcare Associated Infections and Antimicrobial Resistances: A Budget Impact

- Analysis / R. Tarricone et al. *Pathogens*. 2020. Vol. 9(6). P. 502. DOI: 10.3390/pathogens9060502.
18. Puebla-Barragan S., Reid G. Probiotics in Cosmetic and Personal Care Products: Trends and Challenges. *Molecules*. 2021. Vol. 26(5). P. 1249. DOI: 10.3390/molecules26051249.
19. Skin microbiome friendly topical formulations containing probiotic – loaded alginate microspheres: in vitro studies / A. Łętocha et al. *Sci. Rep.* 2025. Vol. 15. P. 34246. DOI: 10.1038/s41598-025-16273-1.
20. The role of lactobacilli in the human microbiome and methods of their cultivation and preservation / S. Mashyn et al. *Georgian medical news*. 2022. Vol. 326. P. 23–35.
21. The Role of Probiotics in Skin Health and Related Gut–Skin Axis: A Review / T. Gao et al. *Nutrients*. 2023. Vol. 15(14). P. 3123. DOI: 10.3390/nu15143123.
22. Topical application of probiotics in skin: adhesion, antimicrobial and antibiofilm in vitro assays / E. G. Lopes et al. *Journal of Applied Microbiology*. 2017. Vol. 122(2). P. 450–461. DOI: 10.1111/jam.13349.
23. Topical Probiotics: More Than a Skin Deep / M. Habeebuddin et al. *Pharmaceutics*. 2022. Vol. 14(3). P. 557. DOI: 10.3390/pharmaceutics14030557.
24. Анохіна Г. А. Пробиотики у профілактиці та лікуванні захворювань людини. *Український терапевтичний журнал*. 2020. № 3. С. 22–28.
25. Буценко Л. М. Проблеми застосування пробіотиків у косметичній продукції для догляду за шкірою. *Актуальні питання біотехнології, екології та природокористування* : матеріали Міжнар. наук. конф., м. Харків, 27-28 квіт. 2023 р. Харків : Держ. біотехнол. ун-т, 2023. С. 18.
26. Вивчення in vitro антагоністичної активності ізолятів роду *Bacillus* та відбір перспективних пробіотичних штамів / О. М. Чечет та ін. *Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного*

інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. 2022. Вип. 23, № 1. С. 219–227.

27. Державна Фармакопея України. Доповнення 5 / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2021. 424 с.
28. ДСТУ EN 12353:2022. Хімічні дезінфікувальні та антисептичні засоби. Зберігання тест-організмів для визначення бактерицидної (зокрема легіонеллу), мікобактеріцидної, спороцидної, фунгіцидної та віруліцидної (також бактеріофаги) активності (EN 12353:2021, IDT). Офіц. вид. ; чинний від 31.12.2023. Київ : УкрНДНЦ, 2023. URL: <https://lnk.ua/2V5gWxk4M> (дата звернення: 13.12.2025).
29. Про затвердження Методів проведення досліджень специфічної активності, безпечності, якості (ефективності) дезінфекційних засобів та їх випробування на практиці : Наказ МОЗ України від 03 верес 2020 р. № 2024. URL: <https://lnk.ua/y4Xly1A4X> (дата звернення: 13.12.2025).
30. Пуятін Б. В. Технологічні, біологічні аспекти розробки та стандартизації косметичних засобів з пробіотиками для покращення мікробіоти і стану шкіри. *Хімія, біо-і фармтехнології, екологія та економіка в харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості* : матеріали XI Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 18-19 листоп. 2023 р. Харків : ХПІ, 2023. С. 32–36.
31. Сафронова Л. А., Скороход І. О. Потенціал бактерій роду *Bacillus* як пробіотиків. *Здоров'я України*. 2021. URL: https://health-ua.com/multimedia/userfiles/files/2021/ZU_13-14_2021/ZU_13-14_2021_st14-15.pdf (дата звернення: 13.12.2025).
32. A Single Key for Many Doors? Unlocking the Bio-chemical Potential of *Lactobacillus bulgaricus* Metabolic Postbiotic / S. S. Mousavi Ghahfarrokhi et al. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025. Aug 14. doi: 10.1007/s12602-025-10700-5.

33. Zalila-Kolsi I., Ben-Mahmoud A., Al-Barazie R. *Bacillus amyloliquefaciens*: Harnessing Its Potential for Industrial, Medical, and Agricultural Applications - A Comprehensive Review. *Microorganisms*. 2023. Vol. 11(9). 2215. doi: 10.3390/microorganisms11092215.

ДОДАТОК**Публікації за темою роботи**

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

YOUTH PHARMACY SCIENCE

МАТЕРІАЛИ
VI ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВО-ПРАКТИЧНОЇ
КОНФЕРЕНЦІЇ З МІЖНАРОДНОЮ УЧАСТЮ

10-11 грудня 2025 року
м. Харків

Харків
НФаУ
2025

ліпідах) для захисту від інших компонентів засобу. Змішування з детергентами проводиться в стерильних умовах, з контролем якості (КУО, відсутність забруднень) на кожному етапі, відповідно до GMP та ISO стандартів. Прикладами засобів, що пропонуються виробниками, є: Novozymes (Данія) виробляє пробіотичні добавки для детергентів, використовуючи *Bacillus* для безперервного очищення; Pollet (Бельгія) пропонує лінію probiotic cleaners з тривалою дією до 14 днів; Vetco (США) використовує власні штами у засобах; HeiQ Synbio Clean (Швейцарія) фокусується на біосурфактантах для глибокого очищення. Останніми тенденціями при виробництві є перехід до неінкапсульованих форм для зниження витрат, комбінація з пребіотиками для посилення ефекту, та інтеграція в спреї або концентрати. Серед основних викликів, що постають перед виробниками для забезпечення виробництва стабільних та якісних засобів, є забезпечення стабільності пробіотичних штамів (через втрату життєздатності при $\text{pH} < 4$ або температурі $> 50^\circ\text{C}$), регуляторні бар'єри (суворість вимог до засобів, які класифікують як «біоциди» в ЄС) та контроль якості для точного дозування.

Висновки. Організація виробництва мийних засобів з пробіотиками спрямована на біотехнологічні процеси з фокусом на стійкість та ефективність, з потенціалом для зменшення екологічного впливу. Тенденції включають оптимізацію ферментації та інтеграцію з екологічними детергентами, а також розвиток комбінованих формул. Для вітчизняного виробництва рекомендовано адаптацію біотехнологій з етапами стабілізації та контролю якості, що дозволить реалізувати локальне виробництво з урахуванням регуляторних вимог.

АКТУАЛЬНІСТЬ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПРОБІОТИЧНИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ГІГІЄНИ ШКІРИ

Гороз Р.О.

Науковий керівник: Двінських Н.В.

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

begunova1203@gmail.com

Вступ. Актуальність тематики пробіотичних засобів для гігієни шкіри зумовлена глобальним зростанням антибіотикорезистентності (АБР), яка сягає 700 тис. смертей щорічно за даними ВООЗ, та дисбіозом мікробіому шкіри через агресивні хімічні дезінфеканти. За 2016–2025 рр. опубліковано понад 50 систематичних оглядів, що демонструють перехід від антисептиків до пробіотиків (родів *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*), які модулюють мікробіом, знижуючи патогени на 52–90% без селекції резистентних штамів. Сучасність підкріплена постпандемійним попитом на безпечні засоби та концепцією «One Health», де пробіотики пов'язують гігієну з екологією мікробіому. Інфекції, пов'язані з наданням медичної допомоги (Healthcare-Associated Infections, HAI) виникають у пацієнтів під час перебування в медичних закладах через 48 годин після госпіталізації або до 3 діб після виписки та спричиняють до 700 тис. смертей щорічно у світі (за даними ВООЗ). Найпоширеніші HAI — пневмонії, сепсиси, інфекції сечовивідних шляхів та ран. Пробіотичні засоби для гігієни в концепції Пробіотичної системи очищення та гігієни (Probiotic Cleaning Hygiene System, PCHS) знижують HAI на 52% порівняно з хімічними дезінфекантами. PCHS передбачає дезінфекцію поверхонь та шкіри на основі миючих засобів із спорами пробіотичних бактерій роду *Bacillus* (наприклад, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*). В Україні це актуально для

біотехнологічної галузі, де запроваджуються натуральні продукти для косметології та медицини.

Мета дослідження. Метою роботи є систематичний огляд та аналіз літературних джерел щодо ефективності пробіотичних засобів для шкірної гігієни проти дисбіозу та інфекцій, спричинених патогенною та умовно-патогенною мікрофлорою (зокрема *S. aureus*, *P. aeruginosa*), та визначення перспектив подальших досліджень для досягнення необхідного рівня якості засобів.

Матеріали та методи. Проведено систематичний пошук та аналіз джерел у PubMed, Web of Science, Scopus за ключовими словами: *probiotic skin hygiene, topical probiotics disinfectants, skin microbiome modulation*.

Результати дослідження. Аналіз літературних джерел виявив високу ефективність топічних пробіотиків при шкірних захворюваннях. Зокрема, вони знижують індекс SCORAD (оцінка тяжкості atopічного дерматиту) на 28–46% за 4–12 тижнів застосування, покращуючи зволоження шкіри на 45% та зменшуючи чутливість на 36%. Штами *L. reuteri*, *B. subtilis* та *Bifidobacterium breve* зменшують присутність *S. aureus* та *Pseudomonas* на 80–90%, посилюючи бар'єрну функцію, або знижуючи трансепідермальну втрату води (Transepidermal Water Loss, TEWL) на 21% без токсичності для кератиноцитів. Пробиотики модулюють профіль цитокінів, стимулюють регенерацію, пригнічують біоплівки та синтез керамідів. Відмічений акцент на стабільних емульсіях з мікроінкапсуляцією спор бактерій роду *Bacillus* для тривалої дії. Виявлено проблему в дослідженнях пробіотиків для шкіри — це різноманітність та нерівність результатів, отриманих від не менше, ніж 9 штамів, кожен з яких діє по-різному: один кращий проти *S. aureus*, інший — проти сухості тощо. Спостерігається також розбіжність в дозах мікроорганізмів – від 10^6 до 10^9 КУО/г, відмічено, що низька доза може виявитися неефективною, висока — надто дорогою чи нестабільною.

Напрямами подальших досліджень є роботи з підбору та стандартизації перспективних в цьому застосуванні пробіотичних штамів, з досягнення необхідного рівня фізико-хімічної та мікробіологічної стабільності засобів. Перший напрям вирішується шляхами метаболічної та генетичної інженерії та дослідженням умов ферментації, другий – підбором та дослідженням технологічних параметрів виробництва засобів в оптимальних формах, наприклад застосування технологій інкапсуляції.

Висновки. Пробиотичні засоби для шкірної гігієни є перспективною альтернативою хімічним дезінфекантам, оскільки демонструють високу ефективність проти дисбіозу та інфекцій (зниження патогенів на 80–90%, індексу SCORAD на 28–46%), покращення зволоження на 45% та зниження бар'єру TEWL на 21%. Штами *L. reuteri*, *B. subtilis*, *Bifidobacterium breve* демонструють антибіоплівкову, імуномодулюючу дію без токсичності, перспективну для GMP-продуктів. Для усунення недоліків, як гетерогенність штамів та варіативність дозувань перспективним є селекція штамів, оптимізація умов та способів ферментації, а також використання сучасних технологій формуляції, наприклад мікроінкапсуляція спор *Bacillus* для отримання стабільних емульсій. Перехід від хімічних антисептиків до пробіотичних систем (PCHS) відповідатиме концепції One Health, сприятиме розширенню ринку натуральних засобів через промислове масштабування в біотехнології України.



**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
РАДА МОЛОДИХ ВЧЕНИХ ПРИ ХАРКІВСЬКІЙ ОБЛАСНІЙ ВІЙСЬКОВІЙ
АДМІНІСТРАЦІЇ
РАДА МОЛОДИХ ВЧЕНИХ
СТУДЕНТСЬКЕ НАУКОВЕ ТОВАРИСТВО**

ПРОГРАМА

**VI Всеукраїнської науково-практичної конференції
з міжнародною участю
«YOUTH PHARMACY SCIENCE»**

10-11 грудня 2025 р.

Харків – 2025

- Доповідач: ГАВРИЛІЧЕВА Варвара
Науковий керівник: Калюжная О.С., канд. фарм. н., доцент
11. **Перспективність організації виробництва дієтичної добавки на основі *Akkermansia muciniphila***
Доповідач: МАТВІЄВСЬКИЙ Віталій
Науковий керівник: Калюжная О.С., канд. фарм. н., доцент
12. **Фагова терапія як відповідь на кризу антибіотикорезистентності**
Доповідач: КОСЕНКО Вікторія
Науковий керівник: Калюжная О.С., канд. фарм. н., доцент
13. **Мікробіологічні інновації у крафтовому пивоварінні: синергія дріжджів та молочнокислих бактерій**
Доповідач: СІБАРОВА Ангеліна
Науковий керівник: Калюжная О.С., канд. фарм. н., доцент
14. **Переваги виробництва пігментів мікробним синтезом**
Доповідач: СЕРВЕТНИК Дмитро
Науковий керівник: Калюжная О.С., канд. фарм. н., доцент
15. **Пробіотичні засоби шкірної гігієни: ефективність проти дисбіозу, лікарняних інфекцій та антибіотикорезистентності**
Доповідач: ГОРОЗ Руслан
Науковий керівник: Двінських Н.В., канд. фарм. н., старший науковий співробітник
16. **Аналіз сучасних біотехнологій у створенні культивованого м'яса**
Доповідач: ЖИДКОВА Ірина
Науковий керівник: Хохленкова Н.В., д. фарм. н., професор
17. **Отримання олігосахаридів грудного молока біотехнологічним способом та їх застосування у заміниках грудного молока**
Доповідач: ЄВТУШЕНКО Андрій
Науковий керівник: Хохленкова Н.В., д. фарм. н., професор
18. **Дослідження щодо застосування біокаталізу для отримання урсодезоксихолієвої кислоти**
Доповідач: КАПЛЮК Вікторія
Науковий керівник: Хохленкова Н.В., д. фарм. н., професор
19. **Аналіз застосування сучасних біоматеріалів для загоєння ран**
Доповідач: МАТЯШ Наталія
Науковий керівник: Хохленкова Н.В., д. фарм. н., професор
20. **Обґрунтування сумісності пробіотичної мікрофлори та біологічно активних речовин фітоекстрактів у молочному середовищі**