

РОЗРОБЛЕННЯ МЕТОДИКИ ТА ОСОБЛИВОСТІ ВИВЧЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ ГЕЛЮ З КОМПЛЕКСНИМ ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ ТРАВИ ЗВІРОБОЮ І КВІТОК НАГІДОК

Ключові слова: консерванти, гель, мікробіологічна чистота, мікробіологічні дослідження, комплексний густий екстракт трави звіробою та квіток нагідок

T. A. SHOSTAK¹ (<https://orcid.org/0000-0002-96790400>),

N. V. DILAY² (<https://orcid.org/0000-0002-3943-3693>)

¹ Danylo Galytsky Lviv National Medical University

² PJSC «Halychpharm» of Corporation «Arterium», Lviv

DEVELOPMENT OF METHODS AND THE STUDY OF MICROBIOLOGICAL PURITY OF THE GEL OF A COMPLEX DENSE EXTRACT OF HYPERICUM HERBS AND CALENDULA FLOWERS

Key words: preserving agents, gel, microbiological purity, microbiological studies, complex dense extract of hypericum herbs and calendula flowers

У фармацевтичному виробництві до складу лікарських засобів (ЛЗ) на гідрофільній основі, які містять компоненти природного походження, для попередження ризику зміни функціональних характеристик унаслідок мікробної контамінації включають різноманітні консерванти. Основна мета введення консервантів у ЛЗ – захист від мікробіологічного ураження в процесі зберігання та застосування. Оскільки мікробне забруднення може викликати інфікування пацієнта або псування засобу, антимікробні консерванти призначені для запобігання розмноження мікроорганізмів та зниження мікробного навантаження або обмеження їх мікробної забрудненості.

Забруднення ЛЗ може відбуватися у процесі виробництва, зберігання і використання, що призводить до зменшення їх терапевтичної активності та стабільності. У цих вимогах обов'язковим критерієм якості є мікробіологічна чистота (МБЧ) [1].

Особливість визначення МБЧ для ЛЗ, які мають антимікробні властивості, полягає у можливості виявити мікроорганізми, які були пригнічені внаслідок бактеріостатичної дії (зменшення росту мікроорганізмів).

Мета роботи полягала у розробленні методики та вивченні МБЧ гелю з комплексним густим екстрактом (КГЕ) трави звіробою і квіток нагідок та підтвердженні ефективності обраних консервантів, що дасть змогу знизити ризики мікробного забруднення ЛЗ протягом терміну його використання.

Матеріали та методи дослідження

Завдяки проведеним раніше дослідженням розроблено гель, до складу якого входить КГЕ трави звіробою і квіток нагідок, для лікування ранових процесів у другій і третій фазах та при захворюваннях слизової оболонки порожнини рота [2]. Як основою було обрано природній гелеутворювач – камедь гуару, яка є стабільна у широкому інтервалі рН (від 3 до 12), термостабільна, стійка при додаванні низки речовин (етанолу, кислот, лугів, електролітів) та її широко використовують при створенні м'яких лікарських форм для лікування ран, виразок, опіків та нанесенні на слизові оболонки [2, 3].

Був вивчений асортимент найпоширеніших консервантів, дозволених для використання у фармацевтиці. У склад гелю було введено суміш антимікробних консервантів

метил- і пропілпарагідроксibenзоату (3:1) у концентраціях, рівних половині максимально допустимих у складі косметичних засобів [2]. Визначення ефективності консервантів у гелі з КГЕ трави звіробою та квіток нагідок виконували згідно з ДФУ 2.0 п. 5.1.4 [4].

Під час валідації методики випробування визначення МБЧ враховували критерій прийнятності за ДФУ 2.0, визначали точність проведення експерименту, специфічність, межу виявлення та робасність [4].

Для встановлення *критерію прийнятності* визначали: загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – не більше 10^2 КУО в 1 г, загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) – не більше 10^1 КУО в 1 г, відсутність *Staphylococcus aureus* в 1 г, відсутність *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г.

Точність проведення експерименту підтверджували за результатами кількості колоній відповідного тест-штаму, які виростили на густому живильному середовищі. Різниця між кількістю клітин на двох паралельних чашках Петрі відповідала *відносному стандартному відхиленню (RSD)*:

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum(N_i - N_{\text{середнє}})^2}{N^2_{\text{середнє}} \cdot (n-1)}} \cdot 100\%,$$

де N_i – досліджувана чашка Петрі;

$N_{\text{середнє}} = \sum N_i / n$, середнє значення числа КУО на двох паралельних чашках Петрі;

N – кількість паралельних чашок Петрі.

Відносне стандартне відхилення (RSD) має відповідати заданим межам.

Специфічність методики вивчали шляхом кількісної оцінки мікроорганізмів у присутності досліджуваних зразків.

Межу виявлення встановлювали на основі коефіцієнта придатності, $K \geq 50\%$, який обраховували за формулою:

$$K = \frac{\text{КУО, одержане з дослідним зразком}}{\text{КУО, одержане в позитивному контролі}} \cdot 100\%.$$

Цей коефіцієнт дає змогу виявити досліджувані мікроорганізми в об'ємі зразка при зазначених умовах експерименту, тобто, підтвердити присутність або відсутність певного мікроорганізму в об'ємі зразка.

Робасність оцінювали на підставі вивчення впливу малих, контрольованих змін на результати дослідження.

Дослідження проводили в асептичних умовах відповідно до діючої ДФУ 2.0. Умови проведення випробування регулярно контролювали шляхом аналізу проб, відібраних відповідним чином у робочій зоні, паралельним проведенням негативних дослідів.

Як тест-мікроорганізми згідно з вимогами ДФУ використовували *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Для валідації методики використовували однодобові культури тест-штамів бактерій, які вирощували у соєво-казеїновому бульйоні, 48-годинну культуру *Candida albicans* ATCC 10231 та 7-добову *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404, які вирощували на відповідному густому живильному середовищі сабуро-декстрозному агарі.

Суспензію тест-мікроорганізмів для інокуляції з концентрацією близько 1 000 КУО/мл готували методом серійних розведень у буферному розчині з натрію хлоридом і пептоном рН 7,0.

Результати дослідження та обговорення

На підставі попередніх досліджень для нейтралізації антимікробної дії зразка обрано нейтралізатори лецитин та полісорбат-80 шляхом додавання їх до розчинника (фосфатний буферний розчин).

Перевірка придатності методики визначення загального числа життєздатних мікроорганізмів. Підготовка зразка: 10 г досліджуваного зразка вміщували у стерильний мірний посуд, доводили об'єм до 100 мл фосфатним буферним розчином, що містив 10 г/л лецитину, 50 г/л полісорбату-80, 1 г/л гістидину гідрохлориду (розведення 1:10), вносили стерильні буси для гомогенізації та ретельно перемішували до однорідного розподілу (Зразок 1).

Визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС). По 1 мл Зразка 1 вносили паралельно на дві порожні чашки Петрі та інокулювали відповідними монокультурами аеробних мікроорганізмів по 0,01 мл суспензії з концентрацією 10 000 КУО/мл (аналогічні процедури проводили відносно всіх використовуваних мікроорганізмів – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404). Після цього додавали по 20 мл розплавленого та охолодженого до 45 °С соєво-казеїнового агару, акуратно перемішували. Інкубували за температури 33 ± 1 °С протягом трьох-п'яти діб. Результати подано в табл. 1.

Визначення загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС). По 1 мл Зразка 1 вносили паралельно на дві порожні чашки Петрі та інокулювали відповідними монокультурами дріжджових та плісневих грибів (подано в табл. 1) по 0,01 мл суспензії з концентрацією 10 000 КУО/мл (аналогічні процедури проводили відносно всіх використовуваних мікроорганізмів – *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404). Після цього додавали по 20 мл розплавленого та охолодженого до 45 °С сабуро-декстрозного агару, акуратно перемішували. Інкубували за температури 23 ± 1 °С протягом п'яти діб. Результати наведено у табл. 1.

Позитивний контрольний дослід. Контроль культури проводили, повторюючи всі процедури за винятком внесення досліджуваного зразка; замість досліджуваного зразка використовували фосфатний буферний розчин із натрію хлоридом і пептоном рН 7,0.

Негативний контрольний дослід. Для контролю умов випробування проводили негативний контрольний дослід, використовуючи вибраний розчинник замість випробуваного зразка. Ріст мікроорганізмів має бути відсутнім.

Відповідно до вимог ДФУ 2.0 окремі види мікроорганізмів мають виявлятися за допомогою індикативних тестів, що наведено у табл. 2. Цю методику, яка дає змогу виявити досліджувані мікроорганізми, наведено нижче.

Випробування на наявність Staphylococcus aureus. 10 мл Зразка 1 вносили у 100 мл соєво-казеїнового бульйону та інокулювали 0,1 мл монокультури бактерій *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 із концентрацією 1 000 КУО/мл. Інкубацію проводили за температури 33 ± 1 °С протягом 18–24 год. Результати наведено у табл. 3.

Після завершення періоду інкубації проводили пересів на чашки з манітно-солевим агаром. Інкубували за температури 33 ± 1 °С від 18 до 72 год.

Випробування на наявність Pseudomonas aeruginosa. 10 мл Зразка 1 вносили у 100 мл соєво-казеїнового бульйону та інокулювали 0,1 мл монокультури бактерій *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 із концентрацією 1 000 КУО/мл. Інкубацію проводили за температури 33 ± 1 °С протягом 18–24 год.

Визначення мікробіологічної чистоти та протигрибової активності

Досліджу- ваний зразок	Тест-штами мікроорганізмів						
	Сосєво-казеїновий агар					Сабуро-декстрозний агар	
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404
Дослід 1	89/92	94/92	39/37	90/91	48/43	85/89	47/45
RSD, %	2,34	1,52	3,72	0,78	7,77	3,25	3,07
Дослід 1 Позитивний контрольний	84/88	96/99	41/38	88/89	48/49	86/90	46/43
RSD, %	3,29	2,18	5,37	0,80	1,46	3,21	4,77
К, %	<u>105,2</u>	<u>95,4</u>	<u>96,2</u>	<u>102,3</u>	<u>93,8</u>	<u>98,9</u>	<u>103,4</u>
Дослід 1 Негативний контрольний	<1 / <1					<1 / <1	
Дослід 2	68/65	29/30	67/70	61/65	33/30	68/67	32/33
RSD, %	3,19	2,40	3,10	4,49	6,73	1,05	2,18
Дослід 2 Позитивний контрольний	70/71	32/30	65/68	64/67	31/31	65/63	34/32
RSD, %	1,00	4,56	3,19	3,24	0,00	2,21	4,29
К, %	94,3	95,2	103,0	96,2	101,6	105,5	98,5
Дослід 2 Негативний контрольний	<1 / <1					<1 / <1	
Дослід 3	75/74	42/45	55/56	46/48	38/40	45/43	42/40
RSD, %	0,95	4,88	1,27	3,01	3,63	3,21	3,45
Дослід 3 Позитивний контрольний	78/74	44/45	59/57	45/45	43/40	47/44	39/41
RSD, %	3,72	1,59	2,44	0,00	5,11	4,66	3,54
К, %	<u>98,0</u>	<u>97,8</u>	<u>95,7</u>	<u>104,4</u>	<u>94,0</u>	<u>96,7</u>	<u>102,5</u>
Дослід 3 Негативний контрольний	<1 / <1					<1 / <1	

Після завершення періоду інкубації проводили пересів на чашки з цетримідним агаром. Інкубували за температури 33 ± 1 °C від 18 до 72 год. Результати наведено у табл. 3.

Придатність методики визначали при порівняльній оцінці кількості КУО тест-культур у дослідженні зі зразком та позитивному контролі. Відсутність антимікробної дії зразка вважали підтвердженою, оскільки при підрахунку колоній тест-мікроорганізмів, що виростили на густому середовищі, їх кількість у досліді зі зразком та позитивному контролі не відрізнялася більше, ніж у 2 рази.

Т а б л и ц я 2

Досліджувані тест-мікроорганізми

Випробування на наявність	Живильне середовище	Властивості	Тест-мікроорганізми
<i>Staphylococcus aureus</i>	соєво-казеїновий бульйон	Ростові	<i>S. aureus</i>
	манітно-сольовий агар	ростові та індикативні	<i>S. aureus</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	соєво-казеїновий бульйон	Ростові	<i>P. aeruginosa</i>
	цетримідний агар	ростові та індикативні	<i>P. aeruginosa</i>

Правильність проведення експерименту було підтверджено за результатами кількості колоній відповідного тест-штаму, які виростили на густому живильному середовищі (контрольний дослід – кількість клітин в 0,1 мл). Результати дослідження подано в табл. 1 та 3.

Оцінку результатів досліджень проводили після інкубації протягом 1–3 днів для бактерій та 2–5 днів для грибів. Отримані результати вважали дійсними, так як внесена кількість клітин мікроорганізмів була 10100 КУО на об'єм зразка субстанції.

Т а б л и ц я 3

Результати придатності розробленої методики щодо *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027

Дослідний зразок	Метод посіву	Тест-мікроорганізми	
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 в 1 г	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 в 1 г
Дослід 1	Прямий посів	+++	+++
Позитивний контрольний дослід 1	«	+++	+++
Негативний контрольний дослід 1	«	---	---
Дослід 2	«	+++	+++
Позитивний контрольний дослід 2	«	+++	+++
Негативний контрольний дослід 2	«	---	---
Дослід 3	«	+++	+++
Позитивний контрольний дослід 3	«	+++	+++
Негативний контрольний дослід 3	«	---	---

П р и м і т к а: «+++» – наявність росту мікроорганізмів; «---» – відсутність росту мікроорганізмів.

В и с н о в к и

1. Нами обґрунтовано, розроблено та перевірено методику вивчення мікробіологічної чистоти досліджуваного гелю з комплексним густим екстрактом трави звіробою та квіток нагідок, яка полягає в усуненні антимікробної дії досліджуваного зразка, визначенні точності проведення експерименту, специфічності, методі виявлення, робастності та міцності, незважаючи на його антибактеріальну дію, а також для визначення ефективності антимікробних консервантів.

2. Встановлено, що використання запропонованої методики знижує ризики невиявлення або неналежного виявлення потенційних мікроорганізмів, пригнічених внаслідок антимікробної дії.

3. При визначенні мікробіологічної чистоти у досліджуваному зразку не виявлено *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г; загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не більше 10^2 КУО в 1 г; загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не більше 10^1 КУО в 1 г. За ступенем мікробного навантаження зразок відповідає вимогам ДФУ 2.0. до оромукозних ЛЗ та для нашкірного застосування.

Список використаної літератури

1. Бавикіна М. Л., Вишневецька Л. І., Осолодченко Т. П., Мегалінський В. Л. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки вагінального гелю // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2016. – № 1 (45). – С. 8–13.

2. Засіб із комплексним густим екстрактом трави звіробою та квіток нагідок для лікування ранових процесів у другій і третій фазах та при захворюваннях слизової оболонки порожнини рота у формі гелю. Пат. UA. 124954 U Україна, МПК А61К 36/00, А61К 36/38, А61К 9/00.; Заяв. 27. 11. 2017; Опубл. 25. 04. 2018, Бюл. № 8.

3. Половко Н. П., Башура А. О., Башура О. Г. Дослідження гелів гуарової камеді // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2012. – № 2 (9). – С. 94–96.

4. Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. – Харків: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 1. – 1128 с.

References

1. Bavykina M. L., Vyshnevskaya L. I., Osolodchenko T. P., Mehalinskiy V. L. Doslidzhennia antymikrobnoi aktyvnosti konservativ z metoiu rozrobky vahinalnoho heliu // Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii. – 2016. – № 1 (45). – S. 8–13.

2. Zasib iz kompleksnym hustym ekstraktom travy zviroboiu ta kvitok nahidok dlia likuvannia ranovykh protsesiv u druiii i tretii fazakh ta pry zakhvoriuvanniakh slyzovoi obolonky porozhnyny rota u formi heliu. Pat. UA. 124954 U Ukraina, MPK A61K 36/00, A61K 36/38, A61K 9/00.; Zaiav. 27. 11. 2017; Opubl. 25. 04. 2018, Biul. № 8.

3. Polovko N. P., Bashura A. O., Bashura O. H. Doslidzhennia heliv huarovoi kamedii // Aktualni pytannia farmatsevtichnoi i medychnoi nauky ta praktyky. – 2012. – № 2 (9). – S. 94–96.

4. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. / DP «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». 2-e vyd. – Kharkiv: DP pidpriemstvo «Naukovo-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». – 2014. – T. 1. – 1128 s.

Надійшла до редакції 30 грудня 2019 р.

Прийнято до друку 16 січня 2020 р.

Т. А. Шостак¹ (<https://orcid.org/0000-0002-96790400>),

Н. В. Ділай² (<https://orcid.org/0000-0002-3943-3693>)

¹ Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

² ПАТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум», м. Львів

РОЗРОБЛЕННЯ МЕТОДИКИ ТА ОСОБЛИВОСТІ ВИВЧЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ ГЕЛЮ З КОМПЛЕКСНИМ ГУСТИМ ЕКСТРАКТОМ ТРАВИ ЗВІРОВОЮ І КВІТОК НАГІДОК

Ключові слова: консерванти, гель, мікробіологічна чистота, мікробіологічні дослідження, комплексний густий екстракт трави звіробою та квіток нагідок

А Н О Т А Ц І Я

У фармацевтичному виробництві до складу лікарських засобів на гідрофільній основі, які містять компоненти природного походження, для попередження ризику зміни функціональних характеристик унаслідок мікробної контамінації включають консерванти, які призначені для запобігання розмноженню мікроорганізмів та зниження мікробного навантаження або обмеження їх мікробної забрудненості. Тому обов'язковим критерієм якості лікарських засобів є мікробіологічна чистота.

Мета роботи полягала у розробленні методики та вивченні мікробіологічної чистоти гелю з комплексним густим екстрактом (КГЕ) трави звіробою і квіток нагідок та підтвердженні ефективності обраних консервантів, що дають змогу знизити ризики мікробного забруднення лікарського засобу упродовж терміну його використання.

На основі проведених раніше досліджень розроблено гель, до складу якого входить КГЕ трави звіробою та квіток нагідок для лікування ранових процесів у другій та третій фазах та при захворюваннях слизової оболонки порожнини рота. Як основу було обрано природний гелеутворювач – камедь гуарову. У склад гелю також було введено суміш антимікробних консервантів метил- і пропілпарагідроксibenзоату (3:1) для посилення його антимікробної дії.

У результаті досліджень уперше проведено фармацевтичну розробку складу гелю з КГЕ трави звіробою та квіток нагідок з використанням структурно-механічних і технологічних досліджень. Нами обґрунтовано, розроблено та перевірено методику випробування мікробіологічної чистоти запропонованого гелю. При обґрунтуванні методики випробування на мікробіологічну чистоту враховували критерій прийнятності за ДФУ 2.0. Новизна визначення мікробіологічної чистоти полягає в усуненні антимікробної дії досліджуваного зразка, визначенні точності проведення експерименту, специфічності, методі виявлення, робастності та міцності. Використання запропонованої методики знижує ризики невиявлення або неналежного виявлення потенційних мікроорганізмів, пригнічених внаслідок антимікробної дії.

Придатність методики визначали за порівняльної оцінки кількості колонієутворюючих одиниць (КУО) тест-культур у дослідженні зі зразком та позитивному контролі. Методика є придатною для визначення мікробіологічної чистоти досліджуваного зразка, а також для визначення ефективності антимікробних консервантів. При застосуванні цієї методики антимікробна дія зразка повністю усувається. При визначенні мікробіологічної чистоти у зразку не виявлено *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г, загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не більше 10^2 КУО в 1 г, загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не більше 10^1 КУО в 1 г. За ступенем мікробного навантаження зразок відповідає вимогам ДФУ 2.0. до оромукозних лікарських засобів та для на шкірного застосування.

Т. А. Шостак¹ (<https://orcid.org/0000-0002-96790400>),

Н. В. Дилай² (<https://orcid.org/0000-0002-3943-3693>)

¹ Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

² ПАТ «Галичфарм» корпорации «Артериум», г. Львов

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ И ОСОБЕННОСТИ ИЗУЧЕНИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ ГЕЛЯ С КОМПЛЕКСНЫМ ГУСТЫМ ЭКСТРАКТОМ ТРАВЫ ЗВЕРБОЯ И ЦВЕТКОВ КАЛЕНДУЛЫ

Ключевые слова: консерванты, гель, микробиологическая чистота, микробиологические исследования, комплексный густой экстракт травы звербооя и цветков календулы

А Н Н О Т А Ц И Я

В фармацевтическом производстве в состав лекарственных средств на гидрофильной основе, которые содержат компоненты природного происхождения, для предупреждения риска изменения функциональных характеристик вследствие микробной контаминации включают консерванты, которые предназначены для предотвращения размножения микроорганизмов и снижения микробной нагрузки или ограничения их микробной загрязненности. Поэтому обязательным критерием качества лекарственных средств является микробиологическая чистота. Цель работы заключалась в разработке методики и изучении микробиологической чистоты геля с комплексным густым экстрактом (КГЭ) травы звербооя и цветков календулы и подтверждении эффективности выбранных консервантов, позволяющих снизить риски микробного загрязнения лекарственного средства в течение срока его использования.

На основе проведенных ранее исследований разработан гель, в состав которого входит КГЭ травы звербооя и цветков календулы для лечения раневых процессов во второй и третьей фазах и при заболеваниях слизистой оболочки полости рта. В качестве основы был выбран природный гелеобразователь – камедь гуаровая. В состав геля также была введена смесь антимикробных консервантов метил- и пропилпарагідроксibenзоата (3: 1) для усиления его антимикробного действия.

В результате исследований впервые проведена фармацевтическая разработка состава геля с КГЭ травы звербооя и цветков календулы с использованием структурно-механических и технологических исследований. Нами обоснована, разработана и проверена методика испытания микробиологической чистоты предложенного геля. При обосновании методики испытания микробиологической чистоты учитывали критерий приемлемости по ГФУ 2.0. Новизна определения микробиологической чистоты состоит в устранении антимикробного действия исследуемого образца, определении точности проведения эксперимента, специфичности, методе выявления, робастности и прочности. Использование предложенной методики снижает риски невиявления или ненадлежащего выявления потенциальных микроорганизмов, угнетенных вследствие антимикробного действия.

Пригодность методики определяли по сравнительной оценке количества колониеобразующих единиц (КОЕ) тест-культур в исследовании с образцом и положительном контроле. Методика пригодна для определения микробиологической чистоты исследуемого образца, а также для определения эффективности антимикробных консервантов. При применении этой методики антимикробное дей-

стве образца полностью устраняется. При определении микробиологической чистоты в образце не обнаружены *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г, общее число аэробных микроорганизмов (ТАМС) не более 10^2 КОЕ в 1 г, общее число дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС) не более 10^1 КОЕ в 1 г. По степени микробной нагрузки образец соответствует требованиям ГФУ 2,0. к оромукозным лекарственным средствам и для накожного применения.

T. A. Shostak¹ (<https://orcid.org/0000-0002-96790400>),

N. V. Dilay² (<https://orcid.org/0000-0002-3943-3693>)

¹ *Danylo Galatskyi Lviv National Medical University*

² *PJSC «Halychpharm» of Corporation «Arterium», Lviv*

DEVELOPMENT OF METHODS AND THE STUDY OF MICROBIOLOGICAL PURITY OF THE GEL OF A COMPLEX DENSE EXTRACT OF HYPERICUM HERBS AND CALENDULA FLOWERS

Key words: preserving agents, gel, microbiological purity, microbiological studies, complex dense extract of hypericum herbs and calendula flowers

ABSTRACT

In pharmaceutical industry antimicrobial preservatives that restrict multiplication of microorganisms and decrease bioburden are usually added in composition of hydrophilic medicines that include components of natural origin to prevent possible risks of functional changes in drugs characteristics caused by microbial contamination. Therefore, microbiological purity (MBP) is a crucial criteria for medicines quality. The purpose of the work was to develop the MBP testing methodology for complex gel containing dense extract of hypericum herbs and calendula flowers using structural-mechanical and technological studies.

Methodology for MBP testing of proposed gel was developed and justified considering criteria given in State Pharmacopoeia of Ukraine 2.0. Originality of MPT methodology consists in the gel's antimicrobial action neutralization to decrease possible risks of false results occurrence (including microorganisms inhibited by antimicrobial action of the gel).

The applicability of the methodology was determined comparing the number of test cultures CFUs in presence of gel under specified condition with number of CFUs in positive control. The methodology is suitable for microbiological purity testing of the sample, as well as for the Preservatives Efficacy Testing (PET). When applying the developed methodology, the antimicrobial action of the sample is completely eliminated. While developing the MPT methodology compliance with following acceptance criteria was confirmed for tested sample: Absence of *Staphylococcus aureus* (in 1 g); Absence of *Pseudomonas aeruginosa* (in 1 g); Total aerobic microbial count (ТАМС) – 10^2 CFU per 1 g; Total combined yeasts and molds count (ТУМС) – 10^1 CFU per 1 g. All the tested samples met the requirements of the 2.0. version of State Pharmacopoeia of Ukraine for non-sterile dosage forms for oromucosal and dermal use.

Електронна адреса для листування з авторами: t_shostak8@ukr.net

(Шостак Т. А.)