

УДК 615.454.1:615.242

**ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ АНТИМІКРОБНОГО КОНСЕРВАНТУ  
НАТРІЮ БЕНЗОАТУ В СКЛАДІ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ  
ЗАЛЕЖНО ВІД КОНЦЕНТРАЦІЇ**

*Анісімов В.Ю.<sup>1</sup>, Гельмбольдт В.А.<sup>1</sup>, Половко Н.П.<sup>2</sup>, Стрілець О.П.<sup>2</sup>*

**Одеський національний медичний університет<sup>1</sup>, м. Одеса, Україна**

**Національний фармацевтичний університет<sup>2</sup>, м Харків, Україна**

**Вступ.** Забезпечення мікробіологічної чистоти лікарських засобів в процесі зберігання є обов'язковою умовою розробки препаратів.

**Мета дослідження.** Визначити ефективність консервуючої дії натрію бензоату в складі стоматологічного гелю залежно від концентрації.

**Методи дослідження.** В якості об'єктів дослідження використовували зразки до складу яких вводили 0,3 та 0,5% натрію бензоату (зразок 1 та 2 відповідно). При дослідженнях використовували методіку оцінки ефективності антимікробних консервантів, наведену в ДФУ 2.0 (п.5.1.3, стор. 773-775) [1]. Принцип методу полягає у тому, що в зразки готової лікарської форми з різними консервантами і різними концентраціями консервантів, які знаходяться у первинній упаковці, вносять певну кількість тест-мікроорганізмів і зберігають дані зразки при певній температурі (від 20 до 25 °С) у захищеному від світла місці. Безпосередньо після інокуляції і через визначені проміжки часу (оромукозні лікарські засоби – 14 і 28 діб) із інокульованих зразків відбирають проби (звичайно 1 г) і визначають число життєздатних мікроорганізмів. Усі дослідження виконували у асептичних умовах, з використанням ламінарного боксу (кабінет біологічної безпеки АС2-4Е1 «Esco», Індонезія).

В якості тест-мікроорганізмів використовували *Staphylococcus aureus* АТСС 6538, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 9027, *Candida albicans* АТСС 885-653, *Aspergillus brasiliensis* АТСС 16404.

Перед проведенням досліджень проводили досліди на відповідність ростових властивостей поживних середовищ (кількість вирослих колоній при посіви відповідної кількості мікроорганізмів). Поживні середовища інокульовали малою кількістю тест-штамів мікроорганізмів ( $10\text{-}10^2$  колонієутворюючих одиниць на мл середовища – КУО/мл).

Вихідну культуру кожного із зазначених тест-мікроорганізмів пересівають на поверхню густого соєво-казеїнового живильного середовища у разі вирощування бактерій (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*), у разі вирощування грибів (*Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*) пересівали на густе живильне Сабуро-декстрозне середовище без додавання антибіотиків.

Для приготування культур тест-мікроорганізмів робили висіви бактерій на поверхню щільного поживного соєво-казеїнового середовища, у випадку висіву грибів використовували Сабуро-декстрозне поживне середовище без додавання антибіотиків. Культури бактерій *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa* інкубували у термостаті ТСО-80 при температурі 30-35 °С протягом 18-24 год, культуру *Candida albicans* інкубували при температурі 20-25 °С протягом 2-3 діб, культуру *Aspergillus brasiliensis* при температурі 20-25 °С – 7 діб.

Для приготування суспензій бактеріальних культур і культури гриба *Candida albicans* мікробну масу змивали з поверхні поживного середовища стерильним суспендуючим розчином, що вміщує 9 г/л натрію хлориду Р, переносили у стерильну пробірку і доводили вміст мікроорганізмів до  $10^8$  клітин у мл. При приготуванні суспензії культури *Aspergillus brasiliensis* використовували стерильний суспендуючий розчин, який містить 9 г/л натрію хлориду Р і 0,5 г/л полісорбату-80 Р і доводили вміст спор до  $10^8$  у мл. З кожної суспензії зразу після її приготування відбирали пробу і визначали кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) у 1 мл кожної суспензії шляхом прямого висіву на чашки Петрі на щільні поживні середовища, які використовували для початкового вирощування тест-культур.

До кожного зразка гелю, що досліджується, вносили суспензію з вмістом тест-мікроорганізмів з навантаженням  $10^8$  КУО в 1 мл. У самому зразку мікробне навантаження мало становити від  $10^5$  КУО/мл до  $10^6$  КУО/мл. Критерієм оцінки ефективності антимікробних консервантів було визначення логарифму (lg) зменшення кількості життєздатних клітин мікроорганізмів за відповідний період зберігання після контамінації зразків. У відповідності до вимог ДФУ в препаратах оромукозних засобів логарифм зменшення числа життєздатних клітин бактерій через 14 діб повинен складати не менш 3-х, через 28 діб - число життєздатних клітин бактерій не повинно збільшуватись у порівнянні з кількістю життєздатних мікроорганізмів у попередній контрольній точці. Логарифм зменшення числа життєздатних клітин грибів через 14 діб повинен складати не менше 1-го, через 28 діб - число життєздатних клітин грибів не повинно збільшуватись у порівнянні з кількістю життєздатних мікроорганізмів у попередній контрольній точці.

Після інокуляції мікроорганізмами гелів (навантаження  $10^5$  КУО/мл –  $10^6$  КУО/мл), ретельно перемішували для рівномірного розподілення мікроорганізмів у зразку, з кожного зразка відбирали проби: відразу після обсіменіння та через певні інтервали часу (14 і 28 діб), методом прямого посіву висівали на агаризовані поживні середовища на чашки Петрі для визначення кількості життєздатних мікроорганізмів і розрахунку логарифму зменшення кількості життєздатних мікроорганізмів.

**Основні результати.** Результати наведені у таблиці показують, що після 14-ї діб зберігання інокульованих зразків гелів логарифм зменшення числа життєздатних мікроорганізмів бактерій був більше 3,0 (вимоги ДФУ) і склав для *Staphylococcus aureus* 4,39 і 4,66 (концентрації консерванту 0,3% і 0,5% відповідно), для *Pseudomonas aeruginosa* – 3,28 і 4,44 (концентрації консерванту 0,3% і 0,5% відповідно). На 28-у добу життєздатних клітин мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* для даного консерванту у концентраціях 0,3% і 0,5% не виявлено. Для бактерій *Pseudomonas aeruginosa* через 28 діб експерименту при концентрації натрію бензоату 0,3% кількість життєздатних клітин не збільшилася у порівнянні з попереднім вимірюванням, а у зразках з концентрацією консерванту 0,5% мікроорганізми не виявлялися.

**Антимікробна ефективність консерванту натрію бензоату**

Тест-культури	Концентрація консерванта, %	Мікробне навантаження після інокуляції, lg КУО/мл	Lg зменшення вихідного мікробного навантаження (вимоги ДФУ/зразок)	
			14 діб	28 діб
	0,3	5,9	3 / 4,39	НЗ/НВ
	0,5	5,7	3 / 4,66	НЗ/НВ
	0,3	5,8	3/ 3,28	НЗ/НЗ
	0,5	5,9	3/ 4,44	НЗ/НВ
	0,3	5,9	1/ 2,43	НЗ/НВ
	0,5	5,8	1/ 2,90	НЗ/НВ
	0,3	5,7	1 / 2,34	НЗ/НВ
	0,5	5,9	1/ 2,68	НЗ/НВ

Примітка: НВ – мікроорганізми не виявляються;

НЗ – не спостерігається збільшення числа мікроорганізмів.

На 14-у добу зберігання інокульованих зразків гелів логарифм зменшення числа життєздатних клітин грибів був більше 1,0 (вимоги ДФУ) і для клітин грибів *Candida albicans* склав 2,43 і 2,90 (концентрації консерванту 0,3% і 0,5% відповідно), для культури *Aspergillus brasiliensis* логарифм зменшення числа життєздатних клітин склав відповідно 2,34 (концентрація натрію бензоату 0,3%) і 2,68 (концентрація консерванта 0,5%). На 28-у добу зберігання зразків гелів життєздатних клітин мікроорганізмів *Candida albicans* і *Aspergillus brasiliensis* для даного консерванту у концентраціях 0,3% і 0,5% не виявлено.

Дослідження зразків гелів з консервантом натрію бензоату у концентраціях 0,3% і 0,5% показало, що зразки відповідають вимогам ДФУ за показником «антимікробна ефективність консервантів» до оромукозних лікарських засобів. Слід відмітити, що антимікробна активність консерванту натрію бензоату у концентрації 0,5% у зразках гелів більш ефективна.

**Висновки:** Встановлено, що зразки з вмістом 0,3 та 0,5% натрію бензоату є перспективними для подальших робіт зі створення карієспрофілактичних лікарських засобів, однак за ефективністю дії консервантів розроблених гелів найбільш активними із досліджуваних зразок з 0,5% натрію бензоату.

**Список літератури**

Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.