

УДК 615.454.1:615.322:615.014.4:615.076

<https://doi.org/10.24959/ubphj.19.223>

С. С. Зуйкіна, Л. І. Вишневська, Л. С. Стрельников

*Національний фармацевтичний університет*

## ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ МАЗІ «ФІТОЛАН» У ПРОЦЕСІ ЗБЕРІГАННЯ

**Актуальність.** Мастопатія являє собою доброякісне захворювання молочних залоз, що відноситься до ряду гормонозалежних. Небезпека мастопатії не лише в тому, що вона суттєво знижує якість життя жінки, але і в можливості переродження та маскування початкової стадії раку молочної залози.

**Мета.** Дослідження мікробіологічної чистоти розробленого м'якого лікарського засобу для нашкірного нанесення на основі фітоолій обліпихи, амаранту, петрушки та чайного дерева під умовною назвою «Фітолан» у процесі зберігання.

**Матеріали та методи.** Вивчення зразків м'якої лікарської форми під умовною назвою «Фітолан» проводилось на кафедрі біотехнології НФаУ відповідно до вимог ДФУ 2 вид. Для перевірки та усунення антимікробної дії зразків лікарського засобу використовували розведення лікарської форми 1 : 10.

**Результати та їх обговорення.** Визначення мікробіологічної чистоти зразків лікарського засобу «Фітолан» для зовнішнього нашкірного застосування методом двошарового висівання показало, що загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС) складає 20 КУО/г, загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не перевищує 10 КУО/г впродовж 27 місяців зберігання.

**Висновки.** За результатами проведених досліджень мікробіологічної чистоти досліджуваних зразків м'якої лікарської форми «Фітолан» двошаровим агаровим методом встановлено, що мазь повністю відповідає вимогам ДФУ за показником «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів» впродовж 27 місяців зберігання.

**Ключові слова:** мастопатія; мікробіологічна чистота; фітоолії; м'який лікарський засіб

S. Zuikina, L. Vyshnevskaya, L. Strelnikova

*National University of Pharmacy*

### The study of microbiological purity of ointment "Fitolan" during storage

**Topicality.** Mastopathy is a benign disease of the mammary glands, and it belongs to a number of hormone-dependent pathologies. The danger of mastopathy is not only in that it significantly reduces the quality of life of a woman, but also in the possibility of its rebirth and masking of the initial stage of breast cancer.

**Aim.** Studies of microbiological purity of the developed semi-solid medicine for epicutaneous application on the basis of phytools of sea buckthorn, amaranth, parsley and tea tree under the conditional name "Fitolan".

**Materials and methods.** The testing samples of semi-solid dosage form under the conditional name "Fitolan" was carried out at the Department of Biotechnology of NUPh in accordance with the requirements of the SPhU 2 ed. To test and eliminate the antimicrobial activity of the drug samples, dilutions 1 : 10 of the dosage form were used.

**Results and discussion.** Determination of the microbiological purity of the samples of the medicine "Fitolan" for epicutaneous application using the two-layer seeding method showed that the total number of viable aerobic microorganisms (TAMC) is 20 CFU/g and the total number of yeast and mold fungi (TYMC) does not exceed 10 CFU/g within 27 months of storage, it meets the requirements of SPhU [1].

**Conclusions.** According to the results of microbiological purity research of the studied samples of the semi-solid dosage form "Fitolan" using the double-layer agar method the ointment fully complies with the requirements of SPhU on the indicator "Microbiological purity of non-sterile drugs" within 27 months of storage.

**Key words:** mastopathy; microbiological purity; phytooil; semi-solid drug

С. С. Зуйкина, Л. И. Вишневская, Л. С. Стрельников

*Национальный фармацевтический университет*

### Исследование микробиологической чистоты мази «Фитолан» в процессе хранения

**Актуальность.** Мастопатия представляет собой доброкачественное заболевание молочных желез, относящееся к ряду гормонозависимых. Опасность мастопатии не только в том, что она существенно снижает качество жизни женщины, но и в возможности перерождения и маскировки начальной стадии рака молочной железы.

**Цель.** Исследование микробиологической чистоты разработанного мягкого лекарственного средства для кожного нанесения на основе фитомасел облепихи, амаранта, петрушки и чайного дерева под условным названием «Фитолан».

**Материалы и методы.** Изучение образцов мягкой лекарственной формы под условным названием «Фитолан» проводилось на кафедре биотехнологии НФаУ в соответствии с требованиями ГФУ 2 изд. Для проверки и устранения антимикробного действия образцов лекарственного средства использовали разведения лекарственной формы 1 : 10.

**Результаты и их обсуждение.** Определение микробиологической чистоты образцов лекарственного средства «Фитолан» для наружного кожного применения методом двухслойного посева показало, что общее число жизнеспособных аэробных микроорганизмов (ТАМС) составляет 20 КОЕ/г и общее число дрожжевых и плесневых грибов (ТУМС) не превышает 10 КОЕ/г в течение 27 месяцев хранения.

**Выводы.** По результатам проведенных исследований микробиологической чистоты исследуемых образцов мягкой лекарственной формы «Фитолан» двухслойным агаровым методом установлено, что мазь полностью соответствует требованиям ГФУ по показателю «Микробиологическая чистота нестерильных лекарственных средств» в течение 27 месяцев хранения.

**Ключевые слова:** мастопатия; микробиологическая чистота; фитомасла; мягкое лекарственное средство

## ВСТУП

Мастопатія являє собою доброякісне захворювання молочних залоз, що відноситься до ряду гормонозалежних. Небезпека мастопатії не лише в тому, що вона суттєво знижує якість життя жінки, але і у можливості переродження та маскування початкової стадії раку молочної залози [1].

Медіана виживання хворих на рак молочної залози (РМЗ) за останні роки значно зросла – в основному за рахунок впровадження програм популяційного скринінгу і проведення ад'ювантного лікування. Великий прогрес спостерігається також при лікуванні дисемінованих форм РМЗ [2].

У той же час стратегічні онкологічні показники в різних країнах і на різних континентах істотно відрізняються. Кращі результати виживаності отримані не за рахунок використання нових терапевтичних стратегій, а внаслідок проведення профілактичних заходів на державному рівні.

Концепція розвитку онкології в рамках державної програми в Україні передбачає проведення скринінгу і профілактики основних пріоритетних напрямків під час реформування системи охорони здоров'я країни.

З 2007 р. по 2016 р. загальнодержавна програма боротьби з онкологічними захворюваннями в Україні набула сили закону. На період 2017-2022 рр. була розроблена концепція нової програми, метою якої є зменшення втрат суспільства від раку шляхом зниження онкологічної захворюваності та смертності на основі здійснення міжгалузевих заходів з профілактики, раннього виявлення, комплексного лікування та реабілітації онкологічних хворих [3].

За наявності проліферації в молочній залозі мастопатію відносять до передракових станів, а тому рання діагностика і своєчасно підібране лікування відіграють вирішальну роль у збереженні фізичного, психологічного та репродуктивного здоров'я жінки [4, 5].

Одним з етіологічних чинників виникнення мастопатії є пошкодження шкіри молочної залози, зокрема, тріщини сосків, які виникають з різних причин. Тріщини сосків – дефект, ураження цілісності шкіри на сосках молочних залоз, які проявляються різким болем, що іррадіює в лопатку, найчастіше під час годування немовлят груддю. Тріщини можуть ускладнитися інфікуванням, розвитком кандидозу, запаленням шкіри та підшкірних тканин молочної залози [6].

Тому **метою роботи** було дослідження мікробіологічної чистоти розробленого м'якого лікарського засобу для нашкірного нанесення на основі фітоолій обліпихи, амаранту, петрушки та чайного дерева під умовною назвою «Фітолан» для лікування механічних пошкоджень шкіри молочних залоз.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення зразків м'якої лікарської форми під умовною назвою «Фітолан» проводилось на кафедрі біотех-

нології НФаУ відповідно до вимог ДФУ 2 вид. (п. 2.6.12, стор. 251) [7].

Досліджувані зразки лікарської форми повинні відповідати критеріям прийнятності мікробіологічної чистоти нестерильних лікарських форм для зовнішнього нашкірного застосування: загальна кількість життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не повинна перевищувати  $10^2$  КУО/г (колонієутворюючі одиниці в 1,0 г зразка) і дріжджових і плісневих грибів (ТҮМС)  $10^1$  КУО/г. Також повинні бути відсутні бактерії *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (ДФУ 2.0, п. 5.1.4, стор. 775).

Досліджувані зразки лікарського засобу зберігали в прохолодних умовах (8-15 °С). Мікробіологічну чистоту визначали відразу після приготування лікарського засобу, а потім через 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 і 27 місяців зберігання. Усі дослідження виконували в асептичних умовах з використанням ламінарного боксу (кабінет біологічної безпеки АС2-4Е1 «Esco», Індонезія).

Відповідно до рекомендацій ДФУ під час випробувань використовували наступні густі та рідкі поживні середовища: соєво-казеїновий агар (для визначення загальної кількості життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС)), Сабуро-декстрозний агар (для визначення загальної кількості дріжджових та плісневих грибів (ТҮМС)), соєво-казеїновий бульйон (для попереднього інкубування при визначенні наявності певних видів мікроорганізмів), манітно-сольовий агар (для ідентифікації *Staphylococcus aureus*), цетримідний агар (для ідентифікації *Pseudomonas aeruginosa*). Поживні середовища відповідали вимогам за ростовими, інгібіторними та індикативними властивостями, витримували випробування на стерильність відповідно до вимог ДФУ 2.0 [4].

Для перевірки придатності методик визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів і грибів у якості тест-штамів використовували наступні мікроорганізми з американської колекції культур (АТСС): *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404. Підготовку тест-мікроорганізмів проводили відповідно до вимог ДФУ. Тест-штами бактерій та грибів вирощували кожен окремо на відповідних поживних середовищах: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* на соєво-казеїновому бульйоні (при температурі 30-35 °С від 18 до 24 годин); тест-штами грибів – на поверхні Сабуро-декстрозного агару при температурі 20-25 °С (культуру *C. albicans* вирощували впродовж 48 годин, *A. brasiliensis* – впродовж 5 діб).

Робочі суспензії монокультури тест-мікроорганізмів готували з використанням буферного розчину з натрію хлоридом та пептоном рН 7,0 методом послідовних кратних розведень до навантаження близько 100 КУО/мл кожного тест-мікроорганізму. Використовували не менше двох чашок Петрі для кожного

Таблиця 1

**РЕЗУЛЬТАТИ ПЕРЕВІРКИ ПРИДАТНОСТІ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО ЧИСЛА АЕРОБНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ**

Об'єкт дослідження	Середнє число КУО в 1 г зразка					
	<i>S. aureus</i> ATCC 6538		<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027		<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	
	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль
	Соєво-казеїновий агар					
М'яка лікарська форма «Фітолан» (розведення 1 : 10)	100	102	94	98	98	102

тест-мікроорганізму, проводили інкубацію посівів відповідно до вимог ДФУ, підраховували число колоній тест-мікроорганізмів на чашках Петрі, визначали середнє арифметичне значення числа колоній.

Для перевірки та усунення антимікробної дії зразків лікарського засобу використовували розведення лікарської форми 1 : 10. Для проведення одного аналізу відбирали 10,0 г досліджуваного зразка мазі, додавали стерильний буферний розчин з натрію хлоридом і пептоном (рН 7,0), попередньо підігрітий до температури не більше 40 °С, і доводили об'єм до 100 мл (розведення 1 : 10).

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Результати перевірки придатності методики визначення загального числа аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів випробовуваних зразків у розведенні 1 : 10 наведені в табл. 1 та 2.

Результати дослідження, представлені в табл. 1, показали, що досліджувані зразки ЛФ «Фітолан» в умовах випробування на мікробіологічну чистоту на поживному соєво-казеїновому середовищі в розведенні 1 : 10 не виявляють антимікробної дії по відношенню до бактеріальних культур мікроорганізмів *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *B. subtilis* ATCC 6633.

Результати, представлені в табл. 2, показали, що досліджувані засіб в умовах випробування на мікробіологічну чистоту на Сабуро-декстрозному агарі в розведенні 1 : 10 не проявляє пригнічувальної дії на життєздатність грибів *C. albicans* ATCC 10231 і *A. brasiliensis* ATCC 16404.

Дані, наведені у табл. 1 та 2, свідчать про придатність методики для випробування на загальне число

життєздатних аеробних мікроорганізмів і грибів зразків лікарської форми «Фітолан» у розведенні 1 : 10.

При аналізі мікробіологічної чистоти використовували метод, що пропонує ДФУ: визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС) і дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) – метод двошарового (національна частина) посіву.

При використанні двошарового методу в стерильні чашки Петрі вносили від 15 до 20 мл соєво-казеїнового агару або Сабуро-декстрозного агару з температурою 45-50 °С, давали агару застигнути. По 1 мл підготовлених зразків мазі (розведення 1 : 10) вносили у стерильні пробірки, що містили по 4 мл відповідного розплавленого та охолодженого агару. Швидко перемішували вміст пробірки і переносили в підготовлені чашки Петрі, похитуванням чашки Петрі рівномірно розподіляли верхній шар поживного середовища.

Після застигання агару чашки інкубували при температурі 30-35 °С впродовж 5 діб (для бактерій), при температурі 20-25 °С впродовж 7 діб – при визначенні грибів.

Результати визначення мікробіологічної чистоти зразка лікарського засобу «Фітолан» наведені у табл. 3.

Інкубація підготовлених зразків (розведення 1 : 10) на манітно-сольовому агарі (температура 30-35 °С – 72 години) і цетримідному агарі (температура 30-35 °С – 72 години) показала відсутність колоній, що відповідає результату – «відсутність бактерій *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* в 1 г досліджуваних зразків». Таким чином, результати, представлені у табл. 3, свідчать про те, що в аналізованих зразках м'якої лікарської форми «Фітолан» не виявлено бак-

Таблиця 2

**РЕЗУЛЬТАТИ ПЕРЕВІРКИ ПРИДАТНОСТІ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО ЧИСЛА ДРІЖДЖОВИХ ТА ПЛІСНЕВИХ ГРИБІВ**

Об'єкт дослідження	Середнє число КУО в 1 г зразка			
	<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	
	дослід	контроль	дослід	контроль
	Сабуро-декстрозний агар			
М'яка лікарська форма «Фітолан» (розведення 1 : 10)	100	94	96	98

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЗРАЗКІВ МАЗІ «ФІТОЛАН» ЗА ПОКАЗНИКОМ  
«МІКРОБІОЛОГІЧНА ЧИСТОТА»**

Об'єкт дослідження	Метод двошарового висівання		Мікроорганізми <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Кількість КУО/г		
	аеробних мікроорганізмів (ТАМС)	дріжджових і плісневих грибів (ТУМС)	
Свіжовиготовлені			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	до 10	до 10	Відсутні
3 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	до 10	до 10	Відсутні
6 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	до 10	до 10	Відсутні
9 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	до 10	до 10	Відсутні
12 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	до 10	до 10	Відсутні
15 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	10	до 10	Відсутні
18 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	10	до 10	Відсутні
21 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	10	до 10	Відсутні
24 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	20	до 10	Відсутні
27 міс. зберігання			
М'яка лікарська форма «Фітолан»	20	до 10	Відсутні

Примітки: КУО/г – колонієутворюючі одиниці в 1,0 г зразків

терії *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* впродовж 27 місяців.

Визначення мікробіологічної чистоти (табл. 3) зразків лікарського засобу «Фітолан» для зовнішнього наскірнього застосування методом двошарового висівання показало, що загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів (ТАМС) складає 20 КУО/г і загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не перевищує 10 КУО/г впродовж 27 місяців зберігання, що відповідає вимогам ДФУ.

### ВИСНОВКИ

1. Проведені експериментальні дослідження мікробіологічної чистоти досліджуваних зразків м'якої лікарської форми «Фітолан» двошаровим агаровим методом у відповідності з вимогами ДФУ.
2. Встановлено, що зразки мазі повністю відповідають вимогам ДФУ за показником «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів» впродовж 27 місяців зберігання.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Ковалев, А. А. Предопухольевые заболевания молочной железы с высоким риском развития инвазивного рака : скрининг, профилактика, лечение / А. А. Ковалев // Мед. аспекти здоров'я жінки. – 2017. – № 4 (109). – С. 15–18.
2. Зуйкіна, С. С. Створення фітопрепарату для терапії механічних пошкоджень шкіри молочних залоз та профілактики мастопатії / С. С. Зуйкіна, Л. І. Вишневська // Південноукр. мед. наук. журн. – 2017. – № 18. – С. 46–49.
3. Про затвердження Загальнодержавної програми боротьби з онкологічними захворюваннями на період до 2016 року. ВР України. Закон від 23.12.2009 № 1794-VI.
4. Вишневська, Л. І. Фармакотерапія мастопатії. Екстемпоральні прописи. Фітопрепарати та гомеопатичні лікарські засоби : метод. рек. / Л. І. Вишневська, С. С. Зуйкіна. – Х. : Вид-во ІФНМУ – НФаУ, 2017. – 44 с.
5. Siu, A. L. Screening for Breast Cancer : U. S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement / A. L. Siu // Annals of Internal Medicine. – 2016. – Vol. 164. – P. 279–296. <https://doi.org/10.7326/m15-2886>



6. Шехавцова, К. А. Мягкие лекарственные средства в комплексной терапии мастопатии / К. А. Шехавцова, С. С. Зуйкина // Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік фармацевтика академиясы Хабаршысы. – 2016. – № 4 (77). – С. 19–21.
7. Державна фармакопея України : в 3-х т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.

#### REFERENCES

1. Kovalev, A. A. (2017). *Medychni aspekty zdorov'ia zhinky, 4 (109)*, 15–18.
2. Zuiquina, S. S., Vyshnevskaya, L. I. (2017). *Pivdenoukrainskyi medychnyi naukovyi zhurnal, 18*, 46–49.
3. *Zakon vid 23.12.2009 № 1794-VI*. (2009). Pro zatverdzhennia Zahalnodержavnoi prohramy borotby z onkolohichnymi zakhvoriuvanniamy na period do 2016 roku. VR Ukrainy.
4. Vyshnevskaya, L. I., Zuiquina, S. S. (2017). *Farmakoterapiia mastopatii. Ekstemporalni propysy. Fitopreparaty ta homeopatychni likarski zasoby : metodychni rekomendatsii*. Kharkiv : Vyd-vo IFNMU : NFAU, 44.
5. Siu, A. L. (2016). Screening for Breast Cancer : U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Annals of Internal Medicine, 164 (4)*, 279. <https://doi.org/10.7326/m15-2886>
6. Shekhavtcova, K. A., Zuiquina, S. S. (2016). *Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік фармацевтика академиясы Хабаршысы, 4 (77)*, 19–21.
7. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy*. (2015). Kharkiv: Ukrainyskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv, 1128.

#### Відомості про авторів:

Зуйкіна С. С., канд. фарм. наук, доцент кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: zujkin.svetlana@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7546-6062>

Вишневська Л. І., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: liliavyshnevskaya@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>

Стрельников Л. С., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет.

E-mail: biotech@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0883-470X>

#### Information about authors:

Zuiquina S. S., Candidate of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of Department of Pharmaceutical Technology of Drugs,

National University of Pharmacy. E-mail: zujkin.svetlana@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7546-6062>

Vyshnevskaya L. I., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head Department of Pharmaceutical Technology of Drugs, National University

of Pharmacy. E-mail: liliavyshnevskaya@gmail.com. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>

Strelnikov L. S., Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Biotechnology, National University of Pharmacy.

E-mail: biotech@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0883-470X>

#### Сведения об авторах:

Зуйкіна С. С., канд. фарм. наук, доцент кафедры аптечной технологии лекарств, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: zujkin.svetlana@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7546-6062>

Вишневская Л. И., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой аптечной технологии лекарств, Национальный фармацевтический

университет. E-mail: liliavyshnevskaya@gmail.com: ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>

Стрельников Л. С., д-р фарм. наук, профессор, заведующий кафедрой биотехнологии, Национальный фармацевтический университет.

E-mail: biotech@nuph.edu.ua. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0883-470X>

Надійшла до редакції 17.04.2019 р.