

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СУППОЗИТОРИЕВ С АНТИВАГИНИТНЫМ ДЕЙСТВИЕМ

С. Н. Зубова

Воронежский государственный университет

В статье представлены результаты микробиологического исследования суппозитория, содержащих метронидазол с тримекаином и метронидазол с фуразолидоном. В результате проведенного эксперимента установлено, что разработанные суппозитории обладают необходимой биоцидной активностью. Установлено, что введение консерванта обеспечило микробиологическую стабильность.

Известно, что суппозитории относятся к лекарственным средствам, не стерилизуемым в процессе производства, и могут быть контаминированы микроорганизмами. Количественный и видовой состав микрофлоры, обнаруживаемой в препаратах, весьма разнообразен: это споровые палочки, стафилококки, кишечные бактерии, представители родов *Pseudomonas*, *Salmonella* и др.

Разрабатываемая лекарственная форма, содержащая антибактериальное вещество, должна обладать биоцидной активностью. Кроме того, прежде чем рекомендовать новые суппозитории к клиническим испытаниям, необходимо провести исследования их антимикробной активности *in vitro*.

Целью настоящего исследования явилось изучение антимикробной активности и микробиологической чистоты в процессе хранения разрабатываемых суппозитория, содержащих метронидазол в сочетании с фуразолидоном и метронидазол с тримекаином на основе витепсол и полиэтиленоксидной.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Антимикробную активность суппозитория изучали методом диффузии в агар по известной методике [5]. Чашки Петри (стеклянные) заливали расплавленной агаровой средой, предварительно засеянной тест-штаммами микроорганизмов *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9207), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Proteus vulgaris* (ATCC 6896). Взвесь тест-микробов для посева на чашки Петри готовили по стандарту мутности на 10 ЕД. В качестве посевного материала использовали суточные культуры. Взвесь каждого вида микроорганизма засеивали на чашку Петри.

При определении антимикробной активности суппозитория, расплавленную суппозиторную массу (0,1 г) помещали в центр цилиндра стандартного

образца на засеянную питательную среду. В качестве контроля использовали суппозитории импортного производителя, содержащие 0,5 метронидазола. После внесения образцов чашки выдерживали при комнатной температуре в течение 1 ч. Затем чашки инкубировали при температуре $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18 ч. Диаметры зон угнетения роста тест-микроорганизмов измеряли с точностью до 0,1 мм. [5]

Испытание на **микробиологическую чистоту** суппозитория проводили, используя метод мембранной фильтрации, описанный в статье ГФ XI издания (1990, вып.2) и изменениями к ней от 28.12.95.

Фильтрацию осуществляли в асептических условиях с применением фильтрационной установки, включающей фильтродержатель, соединенный с колбой-приемником. Фильтродержатель состоит из воронки с крышкой и основания из пористой пластины, на которую помещали мембраны. Фильтрацию проводили под вакуумом.

Подготовку образцов для испытаний осуществляли следующим образом: 6,0 суппозиторной массы помещали в 60 мл соответствующего растворителя (для суппозитория на витепсале растворитель — изопропилмиристанат, для суппозитория на ПЭО — вода очищенная). Полученные вытяжки фильтровали через бумажный фильтр, затем полученный фильтрат пропускали по 10 мл через мембраны. По окончании фильтрации мембраны отмывали 6-кратным объемом соответствующего растворителя. После отмывания первые две мембраны накладывали на поверхность тиогликолевой среды (для выращивания бактерий) и инкубировали в течение 48 ч при температуре 30—35 °С. Третью и четвертую мембраны накладывали на поверхность плотной питательной среды Сабуро (для выращивания грибов) и инкубировали в течение 72 ч при температуре 20—25 °С. Окончательный срок инкубации посевов на питательных средах — 5 суток.

Для получения достоверных результатов учитывали только те чашки Петри с мембранами, на

которых был отмечен рост от 10 до 100 колоний микроорганизмов. По окончании инкубации подсчитывали число бактерий, дрожжевых и плесневых грибов. Пятую и шестую мембраны переносили в жидкие питательные среды №3 — обогащения для бактерий семейства Enterobacteriaceae и №8 для выращивания *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*. Инкубировали посеvy в течение 48 ч при температуре 35 °С. [1]

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения биоцидных свойств разработанных суппозиториях в отношении пяти тест-штаммов, как среднее пяти параллельных опытов представлены на рис. 1, 2.

Полученные данные свидетельствуют, что биоцидное действие суппозиториях, содержащих метронидазол и фуразолидон, не зависит от вида основы. Суппозиториях обладают выраженным

противомикробным действием в отношении всех взятых тест-культур микроорганизмов и в наибольшей степени оно выражено в отношении *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*. Их активность намного выше, чем активность суппозиториях, взятых в качестве контроля.

Анализируя результаты проведенного эксперимента, можно заключить, что исследуемые образцы суппозиториях, содержащих метронидазол и местный анестетик тримекаин, обладают антибактериальной активностью, сопоставимой с препаратом сравнения — суппозиториями с метронидазолом импортного производства, в отношении всех исследуемых тест-штаммов микроорганизмов.

С целью изучения микробиологической стабильности суппозиториях подвергали анализу на микробиологическую чистоту в течение двух лет. Результаты приведены на рисунках 3, 4, 5, 6.

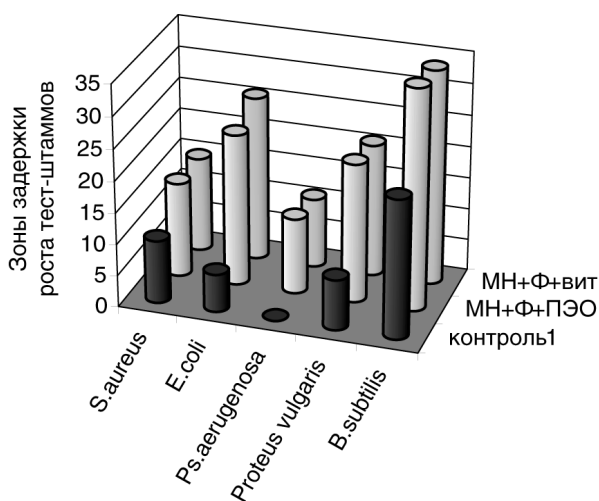


Рис. 1. Антимикробная активность суппозиториях с метронидазолом и фуразолидоном

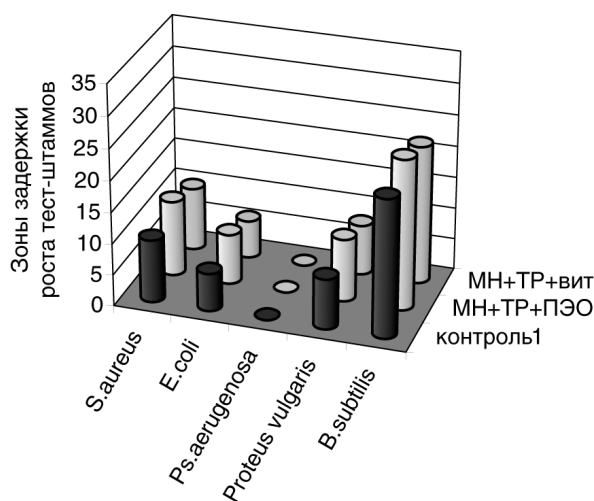


Рис. 2. Антимикробная активность суппозиториях с метронидазолом и тримекаином

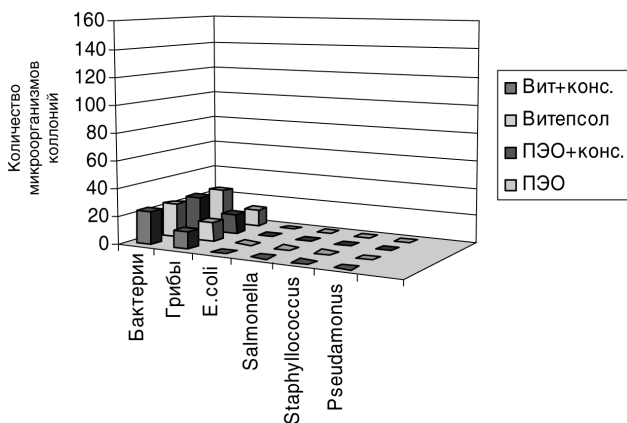


Рис. 3. Микробиологическая чистота суппозиториях, содержащих метронидазол и фуразолидон, свежеприготовленных

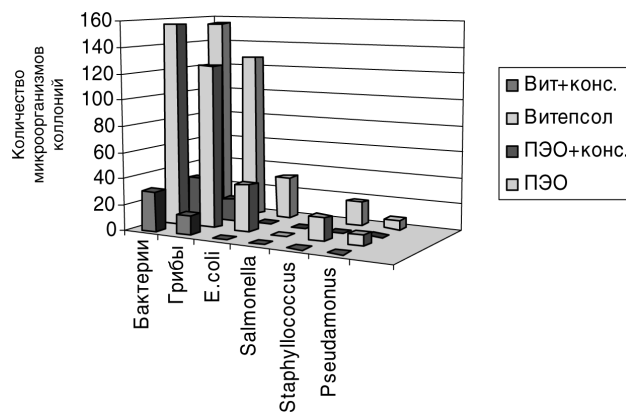


Рис. 4. Микробиологическая чистота суппозиториях, содержащих метронидазол и фуразолидон, 2 года хранения

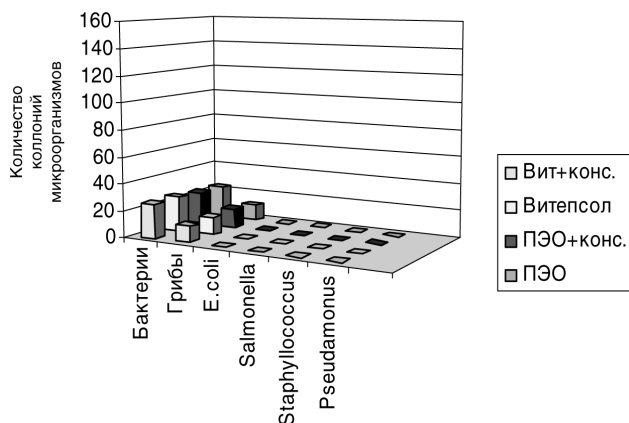


Рис. 5. Микробиологическая чистота суппозиториев, содержащих метронидазол и тримекаин, свежеприготовленных

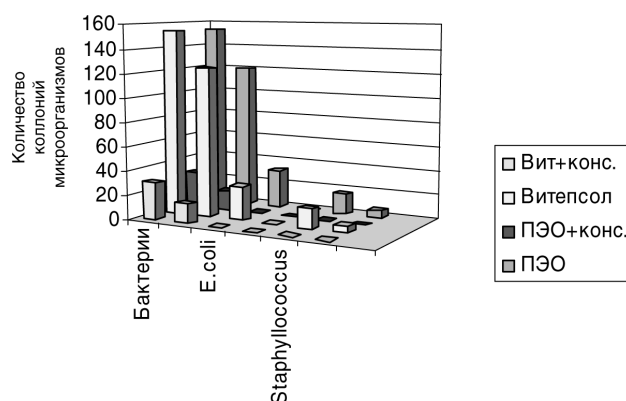


Рис. 6. Микробиологическая чистота суппозиториев, содержащих метронидазол и тримекаин, 2 года хранения

Представленные данные свидетельствуют об увеличении общего микробного числа в процессе хранения суппозиториев. В связи с чем, были приняты дополнительные меры, обеспечивающие микробиологическую чистоту суппозиториев при длительном хранении.

По мнению многих исследователей, оптимальным путем решения проблемы микробиологической стабильности лекарственных средств является использование консервантов. Консервант выполняет две задачи: сохраняет терапевтическую эффективность лекарственного препарата и защищает больного от приема контаминированных микроорганизмами лекарств. В настоящее время номенклатура используемых в фармацевтической практике консервантов достаточно широка. [4].

Проанализировав ассортимент консервантов, с учетом требований, предъявляемых к разрабатываемой лекарственной форме и ее характеристик, остановились на смеси метилового (нипагина) и пропилового (нипазола) эфиров пара-оксибензойной кислоты. Данные консерванты обладают ценными свойствами: совместимы со многими группами действующих и вспомогательных веществ, эффективны при pH 4,0—8,0, малотоксичны и доступны. [3].

По литературным данным бактериостатический эффект в отношении большинства бактерий проявляется при концентрации парабенов 0,1—0,2%, а фунгицидный — 0,015—0,06% [2].

При разработке суппозиториев было использовано соотношение нипагина и нипазола 3:1 в концентрации 0,1%.

Введение консервантов обеспечило микробиологическую стабильность лекарственной формы в процессе хранения (срок наблюдения 2 года). Не отмечалось увеличения общего микробного числа и появления микробов-контаминантов в отличие от суппозиториев, не содержащих консервант.

Таким образом, на основании проведенного исследования можно заключить, что разработанные суппозитории обладают необходимой антимикробной активностью и микробиологической чистотой в течение 2 лет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Микробная загрязненность суппозиториев, возможность их деконтаминации / Бухарцева Е.В., Кивман Г.Я., Шуб Т.А // Фармация. 2001. — №5. С. 11—14.
2. Большаков В.Н. Вспомогательные вещества в технологии лекарственных форм / В. Н. Большаков. — Л., 1991. — 48 с.
3. Драник Л.И. Мягкие лекарственные формы и вспомогательные вещества для их производства / Л.И. Драник // Фармация. — 1990. — №3. — С. 45—47.
4. Рудько Е.А. Разработка составов и технологии лекарственных препаратов с офлоксацином для лечения инфекционных урогенитальных и кожных заболеваний / Е.А. Рудько // Автореф.дисс. ... канд.фарм.наук. — Курск, 2006.
5. Государственная фармакопея РФ. 11-е изд. — М.: Медицина, 1989. — Вып. II.