

Рекомендована д. фарм. н., професором Т. С. Сахаровою

УДК 615.324.012:638.135

<https://doi.org/10.24959/cphj.18.1439>

Н. С. Богдан, О. М. Горошко, А. О. Паламар, О. С. Шпичак*

Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет»

Національний фармацевтичний університет*

МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО ПРЕПАРАТУ «ПРОПЛАНТМЕД» НА ОСНОВІ ФЕНОЛЬНОГО ГІДРОФОБНОГО ПРЕПАРАТУ ПРОПОЛІСУ

Виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки є одним з найпоширеніших захворювань у світі, що потребує створення та дослідження нових ефективних та безпечних лікарських засобів.

Мета роботи. Вивчення мікробіологічних властивостей нового комбінованого препарату на основі фенольного гідрофобного препарату прополісу «Проплантмед».

Матеріали та методи. Дослідження на мікробіологічну чистоту препарату здійснено відповідно до Державної фармакопеї України. Для досліджень використовували наступні поживні середовища: соєво-казеїновий бульйон, («Himedia Laboratories Pvt. Ltd India»), соєво-казеїновий агар («Himedia Laboratories Pvt. Ltd India»), тиогліколевое середовище для контролю стерильності («Himedia Laboratories Pvt. Ltd India») та Сабуро-декстрозний агар (Виробництво Індії, «Himedia Laboratories Pvt. Ltd India»).

Результати. Експериментальні зразки лікарського препарату «Проплантмед» відповідають вимогам ДФУ та випробуванням «Мікробіологічна чистота», і цей факт є важливим показником гарантії якості готового лікарського засобу.

Висновки. За результатами проведеного експерименту встановлено, що рівень мікробіологічної чистоти запропонованих гранул відповідає вимогам ДФУ, і цей показник є гарантією якості даного препарату.

Ключові слова: виразкова хвороба шлунка; мікробіологічне дослідження; фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП); «Проплантмед»

N. S. Bohdan, O. M. Horoshko, A. O. Palamar, O. S. Shpychak*

Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovina State Medical University"

*National University of Pharmacy**

Microbiological studies of a new combined drug "Proplantmed" based on propolis phenolic hydrophobic drug

Gastric and duodenal ulcer is one of the most widespread diseases in the world; therefore, creation and research of new effective and safe medicines are of great importance.

Aim. To study the microbiological properties of the new combined drug "Proplantmed" based on propolis phenolic hydrophobic drug (PPHD).

Materials and methods. The studies of microbiological purity of the drug were performed according to the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPHU). The following growth media were used for testing: soybean casein digest medium ("Himedia Laboratories Pvt. Ltd. India"), soybean casein digest agar ("Himedia Laboratories Pvt. Ltd. India"), thioglycollate medium for sterility control ("Himedia Laboratories Pvt. Ltd. India") and Sabouraud dextrose agar (manufacturing country: India, ("Himedia Laboratories Pvt. Ltd. India")).

Results. The experimental samples of the drug "Proplantmed" meet the requirements of the SPhU and "Microbiological Purity" test; this fact is an important quality indicator of the finished medicinal product.

Conclusions. According to the results of the experiment conducted it has been found that level of microbiological purity of the granules proposed meets the requirements of the SPhU; this indicator is the quality guarantee of this drug.

Key words: gastric ulcer; microbiological studies; propolis phenolic hydrophobic drug (PPHD); "Proplantmed"

Н. С. Богдан, А. М. Горошко, А. А. Паламар, О. С. Шпичак*

Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет»

*Национальный фармацевтический университет**

Мікробіологічні дослідження нового комбінованого препарату «Проплантмед» на основі фенольного гідрофобного препарату прополісу

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки является одним из самых распространенных заболеваний в мире, которое требует создания и исследования новых эффективных и безопасных лекарственных средств.

Цель работы. Изучение микробиологических свойств нового комбинированного препарата на основе фенольного гидрофобного экстракта прополісу «Проплантмед».

Материалы и методы. Исследования на микробиологическую чистоту препарата осуществлены в соответствии с Государственной фармакопеей Украины. Для исследований использовали следующие питательные среды: соево-казеиновый бульон, («HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India»), соево-казеиновый агар («HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India»), тиогликолевую среду для контроля стерильности («HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India») и Сабуро-декстрозный агар (производство Индии, «HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India»).

Результаты. Экспериментальные образцы лекарственного препарата «Проплантмед» соответствуют требованиям ГФУ и испытаниям «Микробиологическая чистота», и этот факт является важным показателем гарантии качества готового лекарственного препарата.

Выводы. По результатам проведенного эксперимента установлено, что уровень микробиологической чистоты предложенных гранул соответствует требованиям ГФУ, и этот показатель является гарантией качества данного препарата.

Ключевые слова: язвенная болезнь желудка; микробиологическое исследование; фенольный гидрофобный препарат прополиса (ФГПП); «Проплантмед»

Виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки (ВХШДК) є одним з найпоширеніших захворювань у світі, що зареєстровано майже в 10 % населення. В Україні відзначається збільшення числа хворих, незважаючи на проведену сучасну противиразкову терапію [1]. Попри існування схем діагностики та лікування ВХШДК, терапія не завжди є достатньо ефективною, тому модифікація ерадикаційної терапії та доповнення її додатковими засобами в багатьох випадках є вкрай потрібною, оскільки така терапія при виразковій хворобі є необхідним лікувальним заходом, і обґрунтованість її використання при цьому захворюванні базується на очевидних наукових фактах [2, 3].

У цьому аспекті розробка лікарських препаратів для лікування та профілактики ВХШДК на основі ефективних та нешкідливих для здоров'я людей субстанцій є актуальним завданням медицини та фармації, що сприяло створенню нового комбінованого вітчизняного лікарського препарату у формі гранул під умовною назвою «Проплантмед». Препарат розроблено для комплексного лікування захворювань ШКТ, зокрема ВХШДК, на основі вітчизняних стандартизованих субстанцій продуктів бджільництва – фенольного гідрофобного препарату прополісу (ФГПП), меду порошкоподібного (МП) та субстанції плантаглюцид (СП), які проявляють більш широкий спектр фармакологічної дії: протизапальний, регенеруючий, репаративний, антиоксидантний, антимікробний, імуностимулюючий. Саме тому одним із основних напрямків експериментальних досліджень було вивчення микробиологічної чистоти гранул «Проплантмед».

Метою роботи стало дослідження микробиологічних властивостей нового комбінованого препарату на основі фенольного гідрофобного препарату прополісу «Проплантмед».

Матеріали та методи

Дослідження на микробиологічну чистоту препарату «Проплантмед» проведено згідно з ДФУ I вид. [4]. Для досліджень використовували наступні поживні середовища: соєво-казеїновий бульйон, («HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India»),

соєво-казеїновий агар («HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India»), тиогликолеве середовище для контролю стерильності («HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India»). Для *Candida albicans* використовували Сабуро-декстрозний агар (виробництво Індії, «HiMedia Laboratorles Pvt. Ltd India» з терміном придатності агару до XI 2016). Середовища готували відповідно до вимог виробника (кількість порошку на літр, рН середовища, умови автоклавовання тощо). Кожна серія, яка використовувалася в експерименті, перевірялася на ростові якості відповідно до нормативних документів.

Випробування на микробиологічну чистоту проводили методом прямого посіву на рідкі поживні середовища. Нейтралізацію антибактеріальних властивостей досліджуваних зразків проводили інактиватором, який включає полісорбат-80 (30 г/л) і лецитин (3 г/л).

Дослідження микробиологічних властивостей лікарського препарату «Проплантмед» проводились на базі ДУ «Інститут микробиології та імунології ім. І. І. Мечникова НАМН України» під керівництвом завідувача лабораторії біохімії та біотехнології к. б. н., с. н. с. Т. П. Осолодченко. Під час експерименту досліджували микробиологічну чистоту експериментальних зразків досліджуваних гранул «Проплантмед» [5, 4, 7].

При виконанні були використані сучасні методики микробиологічних досліджень, які дозволяють у повній мірі оцінити якість готового лікарського препарату. Статистичну обробку здійснювали за загальноприйнятими методиками та згідно з вимогами ДФУ [4, 5, 7, 9, 10].

Результати та їх обговорення

Дослідження микробиологічної чистоти препарату «Проплантмед» проводились у відповідності з вимогами МОЗУ [11] та ДФУ 2.0 (п. 2.6.12 та п. 2.6.13). На першому етапі досліджень проводились випробування на відповідність ростових властивостей поживних середовищ: інокуляція невеликою кількістю відповідних тест-штамів мікроорганізмів (10 - 10^2 КУО/мл).

Як видно з результатів дослідження (табл. 1), усі культури мікроорганізмів відповідали таксо-

Таблиця 1

Ростові властивості поживних середовищ, які витримували в експерименті

Тест-штами	Поживні середовища	Умови культивування		Спостереження
		температура, °С	час, год	
S. aureus	Чистовича	35	24-72	+
E. coli	Ендо	35	24-72	+
B. subtilis	соєво-казеїновий агар	35	24-72	+
P. aeruginosa	соєво-казеїновий агар	35	24-72	+
C. albicans	Сабуро	25	24-120	+
X	тіогліколеве для контролю стерильності	35	24-72	-
X	соєво-казеїновий агар	35	24-72	-

Примітка. X – мікроорганізми не засівали; «+» – морфологія колоній і клітин типова; «-» – ріст мікроорганізмів відсутній.

Таблиця 2

Дослідження мікробіологічної чистоти зразка препарату «Проплантмед»

Зразок, №	Кількість зразка у пробірці (мл або г)	Умови культивування, 14 діб при 35 °С		
		соєво-казеїновий бульйон	тіогліколеве середовище	рідке середовище Сабуро
1 (вода)	1,0	-	-	-
	0,1	+	+	-
	0,01	+	+	-
2 (ДМСО)	1,0	-	-	-
	0,1	+	+	-
	0,01	+	+	-

Примітка. «+» – ріст мікроорганізмів; «-» – ріст відсутній.

номічному позначенню штаму, а морфологія колоній при культивуванні на середовищах і морфологія клітин при мікроскопії залишалися типовими. Поживні бульйони (соєво-казеїнове і тіогліколеве середовища) відповідали вимогам, що висуваються до стерильності – ріст мікроорганізмів відсутній, середовище прозоре.

Випробування на мікробіологічну чистоту проводили методом прямого посіву на рідкі поживні середовища, за результатами яких встановлено, що (табл. 2) після 14 діб інкубації при

культивуванні на середовищі Сабуро ріст грибів не спостерігався. Аналогічна картина спостерігалась при випробуванні зразків препарату у кількості 1,0 мл на соєво-казеїновому бульйоні і в тіогліколовому середовищі.

Наявність грампозитивних споривих паличок було зафіксовано при випробуванні зразків препарату № 1 і 2 у кількості 0,1 і 0,01 мл відповідно, що підтверджено шляхом посіву на диференціальні поживні середовища (табл. 3). За морфологією колоній і деякими біологічними

Таблиця 3

Ідентифікація мікроорганізмів, які вирости на соєво-казеїновому бульйоні та у тіогліколовому середовищі

Зразок, №	Об'єм зразка, мл	Ріст мікроорганізмів на поживних середовищах				
		Чистовича	Ендо	кров'яний агар	Сабуро	поживний агар
1	0,1	-	-	+	-	+
	0,01	-	-	+	-	+
2	0,1	-	-	+	-	+
	0,01	-	-	+	-	+

Примітка. «+» – сухі сірі колонії з нерівними краями, жорсткі, не блискучі, гемоліз; «-» – ріст відсутній.

Таблиця 4

Дослідження мікробіологічної чистоти методом прямого посіву

Зразок, №	Об'єм зразка, мл	Кількість мікроорганізмів при культивуванні на твердих поживних середовищах, (0,1 мл в агарі)×10			
		метод глибокого посіву		метод поверхневого посіву	
		1	2	1	2
1	0,1	29 ± 0,8	–	28 ± 0,7	–
	0,01	2,9 ± 0,3	–	2,8 ± 0,4	–
2	0,1	25 ± 0,8	–	26 ± 0,6	–
	0,01	2,5 ± 0,4	–	2,6 ± 0,3	–

Примітка. 1 – соєво-казеїновий агар, 35 °С, 3-5 діб; 2 – Сабуро-декстрозний агар, 25 °С, 4-7 діб; «–» – ріст відсутній.

властивостями мікроорганізми, виділені при дослідженні експериментальних зразків №№ 1 і 2, відносяться до мікроорганізмів роду *B. subtilis*. На диференціальних середовищах (Чистовича – для виділення патогенних стафілококів і Ендо – для виділення представників кишкової групи) ріст мікроорганізмів не виявлено.

При випробуванні методом глибокого посіву (0,1 мл препарату в агарі) і поверхневого посіву (1,0 мл препарату в агарі) визначали кількість життєздатних клітин мікроорганізмів і грибів. При проведенні досліджень методами глибокого і поверхневого посіву зразків препарату на чашках Сабуро встановлена відсутність росту грибів. За результатами експерименту ріст мікроорганізмів спостерігали при культивуванні на соєво-казеїновому агарі (табл. 4), при цьому ріст грибів при дослідженні усіх зразків не спостерігався. Кількість мікроорганізмів на 1 мл зразка препарату не

перевищувала 10^3 КУО/мл, що відповідає вимогам ДФУ 2.0 [5, 7].

На підставі одержаних результатів проведених мікробіологічних досліджень було встановлено, що експериментальні зразки лікарського препарату «Проплантмед» відповідають вимогам ДФУ та випробуванням «Мікробіологічна чистота», і цей факт є важливим показником гарантії якості готового лікарського засобу.

ВИСНОВКИ

На підставі проведених мікробіологічних досліджень встановлено, що рівень мікробної контамінації запропонованих гранул відповідає вимогам ДФУ. Перспективним є подальше вивчення антимікробної активності зразків препарату «Проплантмед», що дозволить в майбутньому використовувати його в складі комплексної терапії виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Перелік використаних джерел інформації

1. Кравец, В. В. Лечение больных с перфоративной язвой желудка и двенадцатиперстной кишки в условиях центральной районной больницы / В. В. Кравец, В. П. Кравец // Актуальні питання клінічної медицини. Актуальні проблеми діагностики та лікування хірургічних хвороб. Актуальні питання теоретичної медицини : матеріали міжнародних науково-практичних конференцій студентів, молодих учених, лікарів та викладачів, присвячених Дню науки України, 23–24 квітня 2009 р. – Суми : СумДУ, 2009. – 126 с.
2. Оболонцева, Г. В. Методические рекомендации по экспериментальному изучению новых противоязвенных препаратов / Г. В. Оболонцева, Л. В. Яковлева, Л. П. Брюзгина. – К. : Фармакологический комитет МЗ Украины, 1995. – 16 с.
3. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on ulcer recurrence after simple closure of perforated duodenal ulcer / A. El-Nakeeb, A. Fikry, T. M Abd El-Hamed et al. // Int. J. Surg. – 2009. – Vol. 7, Issue 2. – P. 126–129. doi: 10.1016/j.ijssu.2008.12.001
4. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 1-е вид., 4 допов. – Х. : Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, 2011. – 540 с.
5. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, 2015. – Т. 1. – 1128 с.
6. Державна фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
7. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, 2014. – Т. 2. – 724 с.
8. Бактеріологічний контроль поживних середовищ / Інформаційний лист МОЗ України, № 05.4.1/1670. – К., 2001.
9. Єріна, А. М. Статистичне моделювання та прогнозування : навч. посіб. / А. М. Єріна. – К. : КНЕУ, 2000. – 170 с.
10. Степанов, В. Г. Статистика : учеб.-метод. материалы / В. Г. Степанов. – М. : МИЭМП, 2005. – 21 с.
11. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : метод. вказівки. – К. : МОЗ України, 2007. – 35 с.

References

1. Kravets, V. V., Kravets, V. P. (2009). *Aktualni pytannia klinichnoi medytsyny. Aktualni problemy diahnozyky ta likuvannia hirurhichnykh hvorob. Aktualni pytannia teoretychnoi medytsyny*. Sumy: SumDU, 126.
2. Obolontceva, G. V., Yakovleva, L. V., Briuzginova, L. P. (1995). *Metodicheskie rekomendatsii po eksperimentalnomu izucheniiu novykh protivioazvennykh preparatov*. Kiev: Farmakologicheskii komitet MZ Ukrainy, 16.
3. El-Nakeeb, A., Fikry, A., Abd El-Hamed, T. M., Fouda, E. Y., El Awady, S., Youssef, T., Farid, M. (2009). Effect of Helicobacter pylori eradication on ulcer recurrence after simple closure of perforated duodenal ulcer. *International Journal of Surgery*, 7 (2), 126–129. doi: 10.1016/j.ijsu.2008.12.001
4. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 1 vyd. (2011)*. Kharkiv: Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv, 540.
5. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 2 vyd. (2015)*. Kharkiv: Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv, 1, 1128.
6. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 1 vyd. (2001)*. Kharkiv: RIREG, 556.
7. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 2 vyd. (2014)*. Kharkiv: Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv, 2, 724.
8. Bakteriologichniy kontrol pozhyvnykh seredovyshch. (2001). *Informatsiinyi lyst MOZ Ukrainy, № 05.4.1/1670*. Kyiv.
9. Yerina, A. M. (2000). *Statystychni modeliuvannia ta prohnozuvannia*. Kyiv: KNEU, 170.
10. Stepanov, V. G. (2005). *Statistika*. Moscow: MIEMP, 21.
11. *Vyvchennia spetsyfichnoi aktyvnosti protymikrobykh likarskykh zasobiv*. (2007). Kyiv, 38.

Відомості про авторів / Information about authors / Информация об авторах

Богдан Н. С., кандидат фармацевтичних наук, асистент кафедри фармації, Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет» (<https://orcid.org/0000-0001-8352-021X>). E-mail: nataliabogdan1602@gmail.com

Bogdan N. S. Candidate of Pharmacy (Ph.D), teaching assistant of the Department of Pharmacy, Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovina State Medical University" (<https://orcid.org/0000-0001-8352-021X>). E-mail: nataliabogdan1602@gmail.com

Богдан Н. С., кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармации, Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет» (<https://orcid.org/0000-0001-8352-021X>). E-mail: nataliabogdan1602@gmail.com

Горошко О. М., кандидат фармацевтичних наук, доцент кафедри фармації, Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет» (<https://orcid.org/0000-0002-1341-3010>). E-mail: olesya-m-gor@yandex.ua

Gorshko O. M., Candidate of Pharmacy (Ph.D), associate professor of the Department of Pharmacy, Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovina State Medical University" (<https://orcid.org/0000-0002-1341-3010>). E-mail: olesya-m-gor@yandex.ua

Горошко А. М., кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации, Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет» (<https://orcid.org/0000-0002-1341-3010>). E-mail: olesya-m-gor@yandex.ua

Паламар А. О., кандидат фармацевтичних наук, асистент кафедри фармації, Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет» (<https://orcid.org/0000-0002-8935-3552>). E-mail: pal.alina26@gmail.com

Palamar A. O., Candidate of Pharmacy (Ph.D), teaching assistant of the Department of Pharmacy, Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovina State Medical University" (<https://orcid.org/0000-0002-8935-3552>). E-mail: pal.alina26@gmail.com

Паламар А. А., кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармации, Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет» (<https://orcid.org/0000-0002-8935-3552>). E-mail: pal.alina26@gmail.com

Шпичак О. С., доктор фармацевтичних наук, професор кафедри аптечної технології ліків ім. Д. П. Сала, Національний фармацевтичний університет (<https://orcid.org/0000-0002-3015-8584>). E-mail: shpichak_oleg@ukr.net

Shpychak O. S., Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor of the Drug Technology Department named after D. P. Salo, National University of Pharmacy (<https://orcid.org/0000-0002-3015-8584>). E-mail: shpichak_oleg@ukr.net

Шпичак О. С., доктор фармацевтических наук, профессор кафедры аптечной технологии лекарств им. Д. П. Сало, Национальный фармацевтический университет (<https://orcid.org/0000-0002-3015-8584>). E-mail: shpichak_oleg@ukr.net

Адреса для листування: 58000, м. Чернівці, вул. Театральна площа, 2, кафедра фармації ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет». Тел. (0372) 55-37-54. E-mail: nataliabogdan1602@gmail.com

Mailing address: 2, Teatralna ploshcha str., Chernivtsi, 58000, Department of Pharmacy, Higher State Educational Institution of Ukraine "Bukovina State Medical University". Tel. (0372) 55-37-54. E-mail: nataliabogdan1602@gmail.com

Адрес для переписки: 58000, г. Черновцы, ул. Театральная площадь, 2, кафедра фармации ВГУЗ Украины «Буковинский государственный медицинский университет». Тел. (0372) 55-37-54. E-mail: nataliabogdan1602@gmail.com