



УДК 616.311-002:614.4[661.847'053.2+547.164.2+661.188.1]

ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАБИЛЬНОСТИ РАСТВОРОВ ЦИНКА СУЛЬФАТА С АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ И ГЛИЦЕРИНОМ

Мальчёнкова С.С.¹, Голяк Н.С.¹, Бердник Н.Н.², Циркунова Ж.Ф.²,
Дегтярёва М.И.¹, Казеко Л.А.¹

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

²Лаборатория внутрибольничных инфекций научно-исследовательской части научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины

УО «Белорусский государственный медицинский университет», г. Минск, Республика Беларусь

Оральный мукозит распространенное осложнение химиолучевого лечения опухолей головы и шеи, сопровождается эритематозным и язвенным поражением слизистой оболочки рта. В качестве средства для медицинской профилактики и лечения может быть использован раствор экстемпорального (аптечного) изготовления, содержащий цинка сульфат, аскорбиновую кислоту и глицерин.

Показателем качества производимой аптеками продукции, определяющим не только сроки хранения лекарственных средств, но и период их безопасного медицинского применения, является микробиологическая чистота. В статье приведены результаты экспериментальных исследований микробиологической стабильности антисептического средства, в состав которого входят цинка сульфат 0,25 %, аскорбиновая кислота 0,5 % и глицерин 5 % или 10 %. Установлено, что в условиях опыта образцы не обладали *in vitro* выраженным antimикробным эффектом в отношении типовых культур микроорганизмов. Микробиологическая чистота исследованных образцов, изготовленных в нестерильных условиях производственной аптеки и хранившихся в течение 5–32 дней, в том числе после вскрытия, соответствует требованиям ст. 5.1.4. Государственной фармакопеи Республики Беларусь.

Ключевые слова: микробиологическая чистота; цинка сульфат; оральный мукозит; аптечное изготовление.

Введение. Онкологические заболевания головы и шеи занимают седьмое место в мире по распространенности. В Республике Беларусь ежегодный прирост онкопатологии данной локализации составляет более 7 % [1]. Осложнением противоопухолевого лечения является оральный мукозит, эритематозное и язвенное поражение слизистой оболочки рта с выраженным болевым синдромом, дисфагией, ксеростомией и повышенной восприимчивостью к инфекциям [2]. Нарушение микробного баланса и колонизация пораженной поверхности слизистой рта условно-патогенной микрофлорой приводит к развитию бактериальных и грибковых инфекций [3].

В качестве средства для медицинской профилактики и лечения орального мукозита может быть использован раствор для полоскания рта аптечного изготовления, содержащий цинка сульфат 0,25 %, аскорбиновую кислоту 0,5 % и глицерин 5 % или 10 %. Фармакологические эффекты лекарственного средства обусловлены свойствами входящих в него компонентов. Цинка сульфат вызывает коагуляцию белков и при применении на слизистых оболочках оказывает вяжущий и противо-

воспалительный эффекты. Его антисептический эффект следствие коагуляции белковых молекул микроорганизмов. Многочисленные публикации сообщают об антибактериальной и противогрибковой активности солей цинка при их минимальной токсичности [4]. В экстемпоральных жидких лекарственных формах цинка сульфат синергично комбинируют с борной кислотой, резорцином, адреналином.

Аскорбиновая кислота как восстановитель выполняет свои неферментативные функции: инактивирует активные формы кислорода и предотвращает реакции перекисного повреждения липидов клеточных мембран. Аскорбиновая кислота не только уменьшает окислительный стресс в тканях, но и способна положительно влиять на объем производимой слюнными железами слюны [5]. Доказана роль аскорбиновой кислоты как хемоаттрактанта клеток иммунной системы. Усиливая хемотаксис нейтрофилов и фагоцитоз, аскорбиновая кислота поддерживает иммунные функции эпителиального барьера и уменьшает повреждение клеток слизистой бактериальными факторами. Сочетание свойств аскорбиновой кислоты подавлять свободнорадикаль-

ные реакции и усиливать иммунную защиту положительно влияет на процессы самоочищения и регенерации тканей [6].

Глицерин представляет собой вязкую сладкую на вкус жидкость, неограниченно смешивается с водой. В технологии лекарственных форм глицерин используется как растворитель или вспомогательный компонент, выступая в роли загустителя, стабилизатора или пластификатора [7]. Глицерин осмотически активен и способствует гидратации поверхности слизистой, что может положительно влиять на симптомы ксеростомии.

Применение при оральном мукозите раствора, в состав которого включены лекарственные средства с антисептическими и противовоспалительными свойствами, уменьшает риск инфекционных осложнений и способствует регенерации эпителия слизистой оболочки рта. Проведение комплексных исследований микробиологических свойств антисептических составов позволяет определить их реальную активность в отношении клинически значимых патогенов, выявить минимальные подавляющие концентрации, изучить влияние

мукозита снижает риск инфекционных осложнений и улучшает прогноз основного заболевания. Оценка микробиологической стабильности растворов цинка сульфата с аскорбиновой кислотой и глицерином актуальна и практически значима в аспекте разработки новых подходов к медицинской профилактике и лечению орального мукозита.

Цель исследования: оценить микробиологическую стабильность растворов цинка сульфата с аскорбиновой кислотой и глицерином для использования на слизистой полости рта до и после вскрытия флаконов.

Материалы и методы. Образцы для исследования растворы цинка сульфата с аскорбиновой кислотой и глицерином были изготовлены в условиях нестерильного помещения производственной аптеки Минска из индивидуальных фармацевтических субстанций цинка сульфата, кислоты аскорбиновой, глицерина 85 % м/м. Растворы хранились при комнатной температуре не выше 25 °C, в защищенном от света месте. Составы и количества анализируемых средств приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Составы лекарственных средств

Состав 1	Цинка сульфата 0,25 г Аскорбиновой кислоты 0,5 г Воды очищенной 100 мл	5 флаконов по 20 мл и 1 флакон 450 мл
Состав 2	Цинка сульфата 0,25 г Аскорбиновой кислоты 0,5 г Глицерина 5,0 г Воды очищенной до 100 мл	5 флаконов по 20 мл и 1 флакон 450 мл
Состав 3	Цинка сульфата 0,25 г Аскорбиновой кислоты 0,5 г Глицерина 10,0 г Воды очищенной до 100 мл	5 флаконов по 20 мл и 1 флакон 450 мл
Состав 4	Цинка сульфата 0,25 г Воды очищенной 100 мл	1 флакон 100 мл
Состав 5	Аскорбиновой кислоты 0,5 г Воды очищенной 100 мл	1 флакон 100 мл

на формирование и разрушение биопленок, оценить нетоксичность для эпителия. Особое значение имеет контроль микробиологической чистоты лекарственных препаратов, так как попадание в них экзогенных загрязнителей, либо рост нежелательных микроорганизмов при хранении и использовании может привести к усугублению орального мукозита и дополнительным осложнениям. Внедрение безопасных, эффективных и современных подходов к лечению и профилактике орального

Микробиологическую чистоту (МЧ) оценивали согласно требованиям Государственной фармакопеи Республики Беларусь (ГФ Республики Беларусь) ст. 5.1.4. «Микробиологическая чистота нестерильных лекарственных средств и фармацевтических субстанций» и методикам, изложенным в ст. 2.6.12. «Микробиологические испытания нестерильной продукции: общее количество жизнеспособных аэробов» и 2.6.13. «Микробиологические испытания нестерильной продукции: испы-

тания на наличие специфических микроорганизмов». Оценка соответствия осуществлялась по показателям общего числа аэробных микроорганизмов (ОКА), общего числа грибов (ОКГ) и специфических микроорганизмов. Для определения ОКА и ОКГ использовали метод глубинного посева. Принятие решения о соответствии производилось по среднему значению при проведении не менее двух параллельных измерений.

Испытания по оценке микробиологической стабильности образцов растворов проводили в Лаборатории внутрибольничных инфекций научно-исследовательской части научно-исследовательского института экспериментальной и клинической медицины УО «Белорусский государственный медицинский университет». Все работы выполняли в асептических условиях, в помещении для выполнения стерильных работ.

В работе использовали питательные сре-ды (ПС) и реактивы: триптон-соевый агар (ТСА); триптон-соевый бульон (ТСБ); агар Сабуро с декстрозой; цетримидный агар; маннитно-солевой агар; 0,9 %-ый раствор натрия хлорида; 0,9 %-ый раствор натрия хлорида, содержащий 0,05 %-ый твина-80. ПС готовили согласно инструкциям производителей и стерилизовали в автоклаве. Все ПС проходили обязательный контроль на стерильность параллельно с испытанием образцов.

В качестве тест-культур использовали: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6051, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Ростовые свойства сред и оценку пригодности метода чашечного подсчета для определения аэробов проводили согласно ст. 2.6.12. ГФ Республики Беларусь. Подтверждение пригодности методов выявления *S. aureus* и *P. aeruginosa* проводили согласно ст. 2.6.13. ГФ РБ.

Оценка антимикробной активности исследуемых образцов осуществлялась методом глубинного посева в питательную среду неразведенных составов 1, 2, 3, 4, 5 и составов 4, 5, разведенных 1 : 10. В контроле вместо образцов использовали раствор натрия хлорида 0,9 %. Результаты оценки антимикробной активности образцов составов представлены в табл. 2–8.

МЧ исследуемых составов определяли с интервалом 7–10 дней. На первом этапе про-

водили посевы образцов растворов, находившихся в оригинальной упаковке, которые не вскрывались в течение всего срока хранения, а на втором и последующем – образцы после вскрытия упаковки, но которые при этом не подвергались извлечению или использованию. Результаты определения МЧ приведены в табл. 9.

Результаты и их обсуждение

Таблица 2 – Результаты оценки антимикробной активности образцов состава 1

Тест-штамм	КОЕ/мл		Контроль/опыт
	Опыт	Контроль	
<i>S. aureus</i>	$9,2 \times 10^2$	$9,4 \times 10^2$	1,02
<i>C. albicans</i>	$5,6 \times 10^2$	$8,3 \times 10^2$	1,48
<i>P. aeruginosa</i>	$11,8 \times 10^2$	$13,1 \times 10^2$	1,11
<i>B. subtilis</i>	$4,2 \times 10^2$	$6,2 \times 10^2$	1,48
<i>A. brasiliensis</i>	$1,5 \times 10^2$	$2,6 \times 10^2$	1,73

Таблица 3 – Результаты оценки антимикробной активности образцов состава 2

Тест-штамм	КОЕ/мл		Контроль/опыт
	Опыт	Контроль	
<i>S. aureus</i>	$10,6 \times 10^2$	$9,4 \times 10^2$	0,89
<i>C. albicans</i>	$6,9 \times 10^2$	$8,3 \times 10^2$	1,20
<i>P. aeruginosa</i>	$12,6 \times 10^2$	$13,1 \times 10^2$	1,04
<i>B. subtilis</i>	$6,7 \times 10^2$	$6,2 \times 10^2$	0,93
<i>A. brasiliensis</i>	$1,5 \times 10^2$	$2,6 \times 10^2$	1,73

Таблица 4 – Результаты оценки антимикробной активности образцов состава 3

Тест-штамм	КОЕ/мл		Контроль/опыт
	Опыт	Контроль	
<i>S. aureus</i>	$9,5 \times 10^2$	$9,4 \times 10^2$	0,99
<i>C. albicans</i>	$5,7 \times 10^2$	$8,3 \times 10^2$	1,46
<i>P. aeruginosa</i>	$12,3 \times 10^2$	$13,1 \times 10^2$	1,07
<i>B. subtilis</i>	$5,7 \times 10^2$	$6,2 \times 10^2$	1,09
<i>A. brasiliensis</i>	$1,7 \times 10^2$	$2,6 \times 10^2$	1,53

Таблица 5 – Результаты оценки антимикробной активности раствора цинка сульфата 0,25% (состав 4)

Тест-штамм	КОЕ/мл		Контроль/опыт
	Опыт	Контроль	
<i>S. aureus</i>	$11,8 \times 10^2$	$9,2 \times 10^2$	0,78
<i>C. albicans</i>	$9,4 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	0,85
<i>P. aeruginosa</i>	$10,8 \times 10^2$	$9,6 \times 10^2$	0,89
<i>B. subtilis</i>	$5,6 \times 10^2$	$4,8 \times 10^2$	0,86
<i>A. brasiliensis</i>	$9,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	1,11

Таблица – 6 Результаты оценки антимикробной активности раствора цинка сульфата 0,25 % (состав 4) в разведении 1 : 10

Тест-штамм	КОЕ/мл		Контроль/опыт
	Опыт	Контроль	
<i>S. aureus</i>	$10,0 \times 10^2$	$10,5 \times 10^2$	1,05
<i>C. albicans</i>	$8,0 \times 10^2$	$7,8 \times 10^2$	0,96
<i>P. aeruginosa</i>	$7,5 \times 10^2$	$10,0 \times 10^2$	1,33
<i>B. subtilis</i>	$4,5 \times 10^2$	$5,8 \times 10^2$	1,29
<i>A. brasiliensis</i>	$1,2 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	1,17

Таблица – 7 Результаты оценки антимикробной активности раствора кислоты аскорбиновой 0,5 % (состав 5)

Тест-штамм	КОЕ/мл		Контроль/опыт
	Опыт	Контроль	
<i>S. aureus</i>	$8,6 \times 10^2$	$9,2 \times 10^2$	1,07
<i>C. albicans</i>	$9,1 \times 10^2$	$8,0 \times 10^2$	0,88
<i>P. aeruginosa</i>	$7,4 \times 10^2$	$9,6 \times 10^2$	1,30
<i>B. subtilis</i>	$3,6 \times 10^2$	$4,2 \times 10^2$	1,17
<i>A. brasiliensis</i>	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^2$	1,00

Таблица – 8 Результаты оценки антимикробной активности раствора кислоты аскорбиновой 0,5 % (состав 5) в разведении 1 : 10

Тест-штамм	КОЕ/мл		Контроль/опыт
	Опыт	Контроль	
<i>S. aureus</i>	$9,5 \times 10^2$	$10,5 \times 10^2$	1,11
<i>C. albicans</i>	$8,5 \times 10^2$	$7,8 \times 10^2$	0,92
<i>P. aeruginosa</i>	$9,0 \times 10^2$	$10,0 \times 10^2$	1,11
<i>B. subtilis</i>	$5,2 \times 10^2$	$5,8 \times 10^2$	1,12
<i>A. brasiliensis</i>	$1,0 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$	1,4

Таблица 9 – Испытание микробиологической стабильности растворов цинка сульфата с аскорбиновой кислотой и глицерином для использования на слизистой полости рта

Сроки хранения	Определяемый параметр	Состав 1		Состав 2		Состав 3	
		Новый флакон	Вскрытый	Новый флакон	Вскрытый	Новый флакон	Вскрытый
Количество КОЕ/мл							
Через 5 дней после изготовления	ОКА	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	ОКГ	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	<i>S. aureus</i>	нр*	нр	нр	нр	нр	нр
	<i>P. aeruginosa</i>	нр	нр	нр	нр	нр	нр
Через 11 дней после изготовления	ОКА	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	ОКГ	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	<i>S. aureus</i>	нр	нр	нр	нр	нр	нр
	<i>P. aeruginosa</i>	нр	нр	нр	нр	нр	нр
Через 18 дней после изготовления	ОКА	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	ОКГ	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	<i>S. aureus</i>	нр	нр	нр	нр	нр	нр
	<i>P. aeruginosa</i>	нр	нр	нр	нр	нр	нр
Через 32 дня после изготовления	ОКА	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	ОКГ	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$	$<10^1$
	<i>S. aureus</i>	нр	нр	нр	нр	нр	нр
	<i>P. aeruginosa</i>	нр	нр	нр	нр	нр	нр

* – нет роста.

Как видно из полученных результатов, ни один из образцов не проявил антимикробную активность *in vitro* в отношении типовых культур микроорганизмов: коэффициент ингибирования роста <2.

Критерии приемлемости для нестерильных лекарственных средств для использования на слизистой оболочке ротовой полости: допустимый уровень обсемененности аэробами 10^2 КОЕ/мл, грибами 10^1 КОЕ/мл, при отсутствии *S. aureus* и *P. aeruginosa*. Для всех лекарственных средств критерии приемлемости интерпретируют с учетом коэффициента 2, т. е. максимальная обсемененность аэробами не должна превышать 200 КОЕ/мл, грибами – 20 КОЕ/мл. В посевах на МЧ ни для одного из исследованных образцов трех различных составов не обнаружен рост микроорганизмов. Поэтому результаты испытаний по показателю МЧ отмечены как менее 10^1 КОЕ/мл, что не превышает фармакопейные критерии приемлемости и не противоречит отнесению растворов к нестерильным ЛС. Как видно из данных в табл. 9, все исследованные образцы соответствовали ГФ Республики Беларусь по показателю «Микробиологическая чистота» в течение всего периода хранения.

Хотя все составы продемонстрировали низкую антибактериальную эффективность *in vitro*, в реальных условиях (*in vivo*) их ан-

тисептическое действие может быть значительно более выражено. Это требует дополнительных исследований антибактериальных свойств комбинации цинка сульфата и аскорбиновой кислоты, тем более что микробиологическая чистота образцов, полученных в нестерильных условиях, соответствует установленным фармакопейным требованиям.

Заключение. Водные растворы, содержащие цинка сульфата 0,25 % и аскорбиновой

кислоты 0,5 %, а также эти растворы с добавлением глицерина 5 % или 10 % стабильны по показателю «микробиологическая чистота» в течение 30 суток хранения при комнатной температуре не выше 25 °C. Показатели микробиологической чистоты как вскрытых, так и невскрытых флаконов с растворами цинка сульфата 0,25 % и аскорбиновой кислоты 0,5 %, а также этих растворов с добавлением глицерина 5 % или 10 % составили $<10^1$ КОЕ/мл на протяжении всего срока хранения.

Список цитированных источников

1. Океанов, А.Е. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных белорусского онкологического регистра за 2010–2019 гг. / А.Е. Океанов, П. И. Моисеев, Л. Ф. Левин, А. А. Евмененко, Т. Б. Ипатий; под ред. С.Л. Полякова. – Минск : РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, 2020. – 298 с.
2. Karlsson C. Prospective study on health-related quality of life, oral mucositis and oral health on during treatment of head and neck cancer / C. Karlsson, N. Bohm, J.S. Andersson, C.A. Almstahl // BMC oral health. – 2024. – Vol. 24 (1). – 697 p. DOI:10.1186/s12903-024-04466-5
3. Место и роль микрофлоры полости рта в патогенезе орального мукозита при злокачественных новообразованиях (обзор литературы) / А.А. Завьялов, А.И. Тырышкин, В.Н. Олесова [и др.] // Современная Онкология. – 2023. – № 25 (4). – С. 525–530. DOI: 10.26442/18151434.2023.4.202544
4. Effects of Zinc Compounds on the Enzymatic Activities of Lysozyme and Peroxidase and Their Antifungal Activities / Yongdae Kim [et all.] // Biological Trace Element Research. – 2024. – Vol. 202. – 5850–5862 p.
5. Ascorbic acid induces salivary gland function through TET2/acetylcholine receptor signaling in aging SAMP1/Klotho (–/–) mice / Nguyen Khanh Toan, Soo-A Kim, Sang-Gun Ahn // Aging. – 2022. – № 14 (15). – 6028–6046 p.
6. Vitamin C and Immune Function Nutrients / Anitra C. Carr, Silvia Maggini // Nutrients. – 2017. – № 11. – 1211 p. doi: 10.3390/nu9111211.
7. Glycerol in food, cosmetics and pharmaceutical industries: basics and new applications / Nur Izyan Wan Azelee [et all.] // International journal of scientific & technology research. – 2019. – Vol. 8 (12). – 553–558 p.

EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL STABILITY OF ZINC SULFATE SOLUTIONS WITH ASCORBIC ACID AND GLYCERIN

Malchenkova S.S.¹, Golyak N.S.¹, Tsyrkunova Z.F.², Berdnik N.N.², Degtyareva M.I.¹, Kazeko L.A¹.

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Laboratory of Nosocomial Infections of the Research Department of the Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Oral mucositis is a common complication of chemoradiation therapy for head and neck tumors and is accompanied by erythematous and ulcerative lesions of the oral mucosa. A compounded solution containing zinc sulfate, ascorbic acid and glycerin can be used as a means for medical prevention and treatment. Microbiological purity is an indicator of the quality of compounding products, which determines not only the shelf life of drugs, but also the period of their safe medical use. The article presents the results of experimental studies of the microbiological stability of an antiseptic agent containing 0,25 % zinc sulfate, 0,5 % ascorbic acid and 5 % or 10 % glycerin. It was found that under the experimental conditions, the samples studied did not have a pronounced antimicrobial effect in vitro against typical cultures of microorganisms. The microbiological purity of the studied samples, prepared under non-sterile conditions of a pharmacy and stored for 5–32 days, including after opening, complies with the requirements of Article 5.1.4. of the State Pharmacopoeia of the Republic of Belarus.

Key words: microbiological purity; zinc sulfate; oral mucositis; compoundin.