

УДК 579.63:61 5.2/3

А.А. ЗАКАРЯН, Л.Л. ОСИПЯН

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ МИКРОМИЦЕТОВ-КОНТАМИНАНТОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Испытаны 7 питательных сред (MA, CDA, CYA, PDA, TC, YMA, SC) наиболее часто рекомендуемых фармакопеями для выделения микромицетов-контаминантов лекарственных препаратов. Для сравнительной оценки среды инокулировали 45 штаммами 15 видов микромицетов из родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Mortierella*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Rhizoctonia*, *Chaetomium*. Подытоживая данные проведенной сравнительной оценки питательных сред для выделения грибных загрязнителей ЛП, можно рекомендовать для всех испытанных видов грибов как наиболее благоприятную – среду YMA, а для видов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus* – среду CYA.

Вероятность контаминации лекарственных препаратов (ЛП) диаспорами микромицетов подтверждена нашими многочисленными исследованиями [1,2].

Известно, что состав питательных сред оказывает существенное влияние на результаты анализа ЛП на микробиологическую чистоту. Главная цель микологического контроля ЛП – создание оптимальных условий для выявления тех, возможно, немногочисленных патогенных микроорганизмов, присутствие которых в препарате не проявляется визуально (неизменность внешнего вида и органолептических показателей ЛП), но может быть причиной лекарственной инфекции.

Целью настоящего исследования был подбор оптимальной среды, позволяющей выявить наиболее широкий спектр микромицетов-контаминантов ЛП.

Для выявления и количественного подсчета мицелиальных микромицетов-контаминантов, содержащихся в ЛП, нами были апробированы 7 питательных сред, которые наиболее часто рекомендуются фармакопеями USP, EP, BP, DAB, GФ XI [3-7], а также исследователями, занимающимися вопросами микробиологического контроля ЛП: солодовый агар (MA) [8], соево-казеиновый агар (SC) [9], Сабуродекстрозный агар (CDA) [9], тиогликолевая среда (TC) [7], Чапек-дрожжевой агар (CYA) [10], картофельно-декстрозный агар (PDA) [11] и солодово-дрожжевой агар (YMA) [12]. В качестве контрольной среды применяли агар Сабуро (CA) [7].

Среды стерилизовали в автоклаве в режиме 1 атм (121°C) в течение 15 минут. В качестве ингибитора бактериального роста в среду вводили антибиотик широкого спектра действия – хлорамфеникол в концентрации 100 мг/л.

Для сравнительной оценки изучаемых питательных сред их инокулировали 45 тест-штаммами 15 видов микромицетов-контаминантов, изолированных из ЛП с наибольшей частотой: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Penicillium cyclopium*, *P. crustosum*, *P. puberulum*, *Mucor corticola*, *M. racemosus*, *Rhizopus stolonifer*, *Mortierella polycephala*, *Alternaria tenuissima*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Cladosporium brevi-compactum*, *Chaetomium globusum*, *Rhizoctonia solani*.

Микологическая нагрузка инокулюма составляла 10^2-10^3 КОЕ/мл физиологического раствора. Экспозиция посевов – 5-7 дней при температуре 25-27°C. На экспериментируемых средах оценивали интенсивность линейного роста тест-культур [12]. Результаты учитывались, начиная с 2, 3, 4 и 5 дня инкубации. В исследованиях учитывались только те чашки, в которых выросло более 30 колоний грибов.

Полученные данные (см. табл.), отражающие линейный рост тест-организмов на питательных средах, позволяют отметить следующее. На среде YMA – наиболее благоприятной для всех испытанных видов грибов, наблюдался почти одинаковый по интенсивности рост аспергиллов, пенициллов и мукоральных грибов. На средах MA, PDA, SC рост грибов *Cladosporium brevi-compactum*, *Chaetomium globosum*, *Scopulariopsis brevicaulis* ограничивался лаг-фазой – фазой начального роста мицелия (ветвления) и не переходил в фазу экспоненциального (непрерывного и равномерного) роста. *Alternaria tenuissima* и *Rhizoctonia solani* проявили одинаково умеренный рост на всех средах с предпочтением среды YMA.

Экспериментально установлено, что наиболее оптимальной питательной средой, позволяющей выявить широкий спектр грибов-контаминантов, является среда YMA следующего состава: дрожжевой экстракт – 4г., солодовый экстракт – 1г., глюкоза – 4г., агар – 15г, дистиллированная вода – 1л, pH – 6,6. В качестве углеводного питания вместо глюкозы может быть использована сахароза. Эксперимент показал, что на этой среде в среднем выросло 62 колонии, в то время как на контрольной среде Сабуро – 46, на MA – 41, PDA – 33, SC – 31.

Сравнительная оценка питательных сред, рекомендуемых фармакопеей для выделения микромицетов-контаминантов ЛП

Микромицеты		Питательные среды						
род	вид	MA	CDA	CYA	PDA	TC	YMA	SC
Mucor	corticola	++	++	+++	++	++	+++	++
	racemosus	++	++	++	++	++	+++	++
Rhizopus	stolonifer	++	++	+++	++	++	+++	++
Aspergillus	flavus	++	++	+++	++	++	+++	++
	niger	++	++	+++	++	++	+++	++
	fumigatus	++	++	+++	++	+++	+++	+++
Penicillium	cyclopium	++	++	+++	++	+++	+++	+++
	crustosum	++	++	+++	+++	++	+++	++
	puberulum	++	++	+++	++	++	+++	++
Scopulariopsis	brevicaulis	+	++	++	+	++	+++	+
Cladosporium	brevi-compactum	+	++	++	+	++	+++	+
Alternaria	tenuissima	++	++	++	++	++	+++	++
Rhizoctonia	solani	++	++	++	++	++	+++	++
Chaetomium	globosum	+	++	+	++	++	+++	+

Начальный рост +, умеренный рост ++, интенсивный рост +++.

Поскольку на среде YMA наблюдался быстрый рост грибов из родов Mucor, Rhizopus, образующих на поверхности агаровой среды сливающиеся колонии, затрудняющие их количественное определение, подсчет видов этих родов следует проводить, начиная со второго дня инкубации.

Подытоживая данные проведенной сравнительной оценки питательных сред выделения грибных загрязнителей ЛП, можно рекомендовать для всех испытанных видов грибов как наиболее благоприятную – среду YMA, а для видов Penicillium, Aspergillus, Mucor, Rhizopus – SYA.

ЛИТЕРАТУРА

1. Осяпян Л.Л., Закарян А.А. К микофлоре нестерильных растительных лекарственных средств. – Биол. ж. Арм., 1989, т.42, N11, с. 483-485.
2. Осяпян Л.Л., Закарян А.А. Микромицеты-контаминанты нестерильных растительных лекарственных средств. – Микол. и фитопат., 1994, N 5, с. 70-77.
3. United States Pharmacopoeia Di 17 th. Editon. By authority of the USP Convention. Inc. Rockville, Maryland. 1997, v. 3, 3362 p.
4. European Pharmacopoeia, 1983, VIII, 10, p. 1-5.
5. British Pharmacopoeia, London, 1973, Appendix XVI, A 121.
6. DAB, 1996, VIII, 10, p. 1-4.
7. Государственная Фармакопея СССР, изд. XI, в. 2: Общие методы анализа. М.: Медицина, 1990, 400 с.
8. FIP Industrial Pharmaces and the Section of Industrial Pharmacists.– Pharm. Acta Helv, 1976, v. 51, p. 33-40.
9. Pitt J.I. The genus Penicillium and its teleomorphic states. Eupenicillium and Talaromyces L. – Acad. Press., 1979, 486 p.
10. Kedzia B. Ocena przydatnosci podlozy do okreslania liczby grzybow w surowcach i preparatach roslinnych. - Herba Pol., 1980, v. 26, N 1, p. 67-72.
11. Guarro A.S., Calvo M.A., Suarez G. Los hongos como contaminentes en la industria farmaceutica. – Circ. Farm., 1978, v. 36, N 261, p. 263-269.
12. Методы экспериментальной микологии. – Справочник. Киев: Наук. думка, 1982, с.550.

Ա.Ա. ԶԱԶԱՐՅԱՆ, Լ.Լ. ՕՍԻՊՅԱՆ

ԴԵՂԱՊԱՏՐԱՍՏՈՒԿՆԵՐԻ ՄՆԿԱՅԻՆ ԱՂՏՈՏԻՉՆԵՐՆ ԱՆՁԱՏԵԼՈՒ ՀԱՍԱՐ ՄՆՆԴԱՅԻՆ ՄԻՋԱՎԱՅՐԵՐԻ ՀԱՏԵՄԱՏԱԿԱՆ ԳՆԱՀԱՏԱԿԱՆԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Դեղապատրաստուկների ԴՊ միկրոմիցետներ-ախտահարիչներն անջատելու նպատակով դեղագրքերում հաճախ առաջարկվող 7 սննդամիջավայր է փորձարկվել (MA, CDA, CYA, PDA, TC, YMA, SC): Համեմատական գնահատականի համար միջավայրերը վարակվել են հետևյալ ցեղերին (Mucor, Rhizopus, Mortierella, Penicillium, Aspergillus, Scopulariopsis, Cladosporium, Alternaria, Rhizoctonia, Chaetomium) պատկանող 15 տեսակի միկրոմիցետների 45 շտամներով:

ԴՊ-ի սնկային ադոտիչներն անջատելու համար սննդային միջավայրի անցկացված համեմատական գնահատականների տվյալների ամփոփումով սնկերի բոլոր փորձարկված տեսակների համար որպես առավել բարերար միջավայր կարելի է առաջարկել YMA միջավայրը, իսկ Penicillium, Aspergillus, Mucor, Rhizopus տեսակների համար՝ CYA միջավայրը: