

ДОСЛІДЖЕННЯ З ВИБОРУ АНТИМІКРОБНОГО КОНСЕРВАНТУ У СКЛАДІ КРЕМУ З ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДОМ ТА МІРАМІСТИНОМ

Олена Рубан, Галина Сліпченко,
Тетяна Осолодченко*, Інна Ковалевська,
Наталя Хохленкова

Національний фармацевтичний університет
України

* Інститут мікробіології та імунології
ім. І. І. Мечникова

Національної академії медичних наук України

Вступ. Проблема реабілітації осіб з наслідками ампутацій кінцівок є багатогранною та надзвичайно актуальною для сучасного суспільства, вимагаючи інтегрованого використання прогресивних медичних розробок, протезування та засобів фізичної терапії. На фармацевтичному ринку України відзначається відсутність лікарських препаратів вітчизняного виробництва, призначених для догляду за куксою, що передбачає створення нових дієвих м'яких лікарських засобів [1].

При контакті з протезом кукса піддається тертю, пітніє та виникають мікротравми. Застосування крему для догляду за куксою, що не відповідає вимогам за мікробіологічною чистотою, може спровокувати інфекційні ускладнення (бактеріальної або грибової природи), негативно впливаючи на процес відновлення. Оскільки крем для кукси має використовуватися регулярно, ключовим є підтримання його стабільності та мікробіологічної чистоти протягом терміну зберігання. Захист від росту мікробів важливий не лише для стерильних ЛЗ, а також для нестерильних препаратів [8, 12]. Відповідний консервант або консервуюча система повинні проявляти широкий спектр антимікробної дії проти різноманітних мікроорганізмів (грампозитивних, грамнегативних, плісняви, дріжджів тощо), розчинятися в розчиннику, не мати подразнювальних властивостей і не взаємодіяти негативно з активним фармацевтичним інгредієнтом (АФІ) або іншими компонентами. Нами в якості консервантів використані найбільш вживані: натрію бензоат та саліцилат [2, 3, 6].

Похідні бензойної кислоти: бензоат натрію та бензойна кислота є особливо поширеними консервантами. Бензоат натрію присутній у багатьох косметичних, харчових і фармацевтичних препаратах у концентраціях від 0,02 до 0,5%. Натрію саліцилат менш використовується як консервант, але має протизапальні та кератолітичні властивості. Тому метою нашої роботи був вибір антимікробного консерванту та його концентрації у складі нового крему з глюкозаміну гідрохлоридом та мірамистином для догляду за шкірою кукси [4, 5, 7-9, 16].

Матеріали та методи

Для дослідження ефективності консервуючої дії консервантів [17] та мікробіологічної чистоти було взято в дослід два зразки крему з вмістом натрію

бензоату 0,3% (зразок 1) та натрію саліцилату 0,3% (зразок 2).

Для оцінки протимікробної активності зразків препаратів використовували наступні тест-штами: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653. Випробування на мікробіологічну чистоту проводили методом прямого посіву на рідкі живильні середовища [10, 11, 13]. Розливали стерильно в пробірки соєво-казеїновий бульйон, тіогліколеве середовище та рідке середовище Сабуро по 10,0 мл. В кожному з пробірок вносили по 0,1 г та 0,001 г досліджуваного препарату. Посіви інкубували 14 днів на соєво-казеїновому бульйоні, тіогліколовому середовищі в термостаті при температурі 35°C, посіви на рідкому середовищі Сабуро при температурі 25°C. Нейтралізацію антибактеріальних властивостей досліджуваних зразків проводили інактиватором, який включає полісorbit-80 (30 г/л) та лецитин (3 г/л).

При дослідженні методом глибокого посіву, який полягав у додаванні препарату у кількості 0,1 г та 0,01 г в агар і поверхневого посіву 0,1 г та 0,01 г на агар визначали кількість життєздатних клітин мікроорганізмів та грибів. Критерієм оцінки антибактеріальної ефективності консервантів вважається зменшення кількості життєздатних колоній клітин мікроорганізмів за певний період після контамінації. У відповідності до вимог ДФУ [14, 15] в препаратах для місцевого застосування логарифм зменшення кількості життєздатних колоній бактерій через 2 доби має складати не менше 2-х, через 7 діб не менше 3-х, у подальшому кількість життєздатних клітин бактерій не повинно збільшуватись. Логарифми зменшення числа життєздатних клітин грибів за 14 суток мають складати не менше 2-х. Ці показники відповідають критерію «А». У відповідності до критерію «В» в зразках для зовнішнього застосування логарифм кількості життєздатних колоній за 14 діб має складати менше 3-х, в подальшому кількість життєздатних колоній не має збільшуватись. Логарифм зменшення числа життєздатних грибів за 14 діб має складати не менше 1 і в подальшому не збільшуватися. Після контамінації мікроорганізмами препарат через певні проміжки часу висівали на агар для визначення числа життєздатних клітин. Відсутність росту на агарі або відсутність збільшення кількості колоній після 14 днів інкубації вказували на те, що препарат відповідає вимогам ДФУ. Наявність життєздатних клітин мікроорганізмів і грибів на 28 добу дослідження вказує, що препарат не відповідає критеріям «А» або «В» і не відповідає вимогам ДФУ.

Визначення чутливості штамів мікроорганізмів до антибактеріальних лікарських засобів проводили у відповідності до методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» (Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 05.04.2007 р. № 167) методом колодязів на середовищі Мюллера-Хінтона («HI Media Laboratories Pvt. Ltd India»), яке готували відповідно до інструкції виробника. Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною

концентрацією мікробних клітин (оптична щільність) проводили за допомогою стандарту каламутності (0,5 од. за шкалою McFarland). Використовували прилад Densi-La-Meter (виробництва PLIVA-Lachema, Чехія; довжина хвилі 540 нм). Суспензію готували згідно з інструкцією до приладу та інформаційного листа про нововведення в системі охорони здоров'я № 163-2006 "Стандартизація приготування мікробних суспензій", м. Київ. Синхронізацію культур проводили за допомогою низької температури (4°C). Чутливість грибів визначали на середовищі Сабуро. Визначення чутливості дослідних речовин проводили на двох шарах поживного середовища, які розливали у чашки Петрі. Нижній шар складався з агар-агару (10 мл). На нього встановлювали 3–6 металеві стерильні циліндри діаметром 8 мм та висотою 10 мм. Навколо циліндрів заливали верхній шар (14 мл поживного середовища + 1 мл мікробного розчину 0,5 од за шкалою Mc Farland), який складався з поживного агарізованого середовища з відповідним стандартом добової культури мікроорганізму.

Оцінку антибактеріальної активності дослідних речовин проводили за діаметром зон затримки росту:
10 мм – мікроорганізм не чутливий до дослідної речовини;

10–15 мм – мікроорганізм слабо чутливий до дослідної речовини;

15–25 мм – мікроорганізм чутливий до дослідної речовини.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за програмою «Statgraphics» згідно з вимогами ДФУ [14].

Дослідження проводили в лабораторії біохімії і контролю мікробних поживних середовищ Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України під керівництвом старшого наукового співробітника Осолодченко Т. П.

Результати та обговорення

Результати дослідження (табл. 1) показують, що після 14 днів інкубації при культивуванні на середовищі Сабуро рост грибів був відсутній. На соєво-казеїновому бульйоні та тіогліколевому середовищі при випробуванні зразків крему №1 та 2 у кількості 0,1 г зростання мікроорганізмів відсутнє, при випробуванні зразків в кількості 0,01 г зростання мікроорганізмів відсутнє у крему №2, у зразку крему №1 спостерігалось зростання мікроорганізмів.

Таблиця 1. Ефективність консервантів в досліджуваних зразках

Зразки	Кількість лікарського засобу в пробірці (мл або г)	Умови культивування		
		Соєво-казеїновий бульйон 14 діб при 35°C	Тіогліколеве середовище 14 діб при 35°C	Рідке середовище Сабуро 14 діб при 25°C
Зразок 1	0,1	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання грибів відсутнє
	0,01	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання грибів відсутнє
Зразок 2	0,1	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання грибів відсутнє
	0,01	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання грибів відсутнє

Мікроскопія показала наявність грампозитивних коків. Підтвердження було отримано шляхом розсіву на

диференціальні поживні середовища. Дані надані у таблиці 2.

Таблиця 2. Ідентифікація мікроорганізмів, які вирости на соєво-казеїновому бульйоні і тіогліколевому середовищі

Зразки	Кількість зразку в г	Ріст мікроорганізмів на поживних середовищах				
		Чисто вича	Ендо	Кров'яний агар	Сабуро	Поживний агар
Зразок № 1	0,01	x	x	Блискучі білі колонії, з рівними краями слизкі, гемоліз відсутній	x	Блискучі білі колонії, з рівними краями слизкі

Примітка: x – ріст мікроорганізмів відсутній

Наведені результати в таблиці 2 показують, що по морфології колоній та деякими біологічними властивостям виділені мікроорганізми відносяться до

Staphylococcus saprophyticus. На диференціальних середовищах (середовище Чистовича та середовище Ендо) по виділенню представників кишкової групи та

патогенних стафілококів росту серед інших видів мікроорганізмів не спостерігалось.

При дослідженні методом глибокого посіву, який полягав у додаванні препарату у кількості 0,1 г та 0,01 г в агар і поверхневого посіву 0,1 г та 0,01 г на агар визначали кількість життєздатних клітин

мікроорганізмів та грибів. Дослідження поверхневого та глибинного посіву препаратів на чашках Сабуро показали відсутність росту грибів. При культивуванні на соєво-казеїновому агарі спостерігалось відсутність росту мікроорганізмів при 0,1 г, та наявність росту при 0,01 г (табл. 3.)

Таблиця 3. Дослідження на мікробіологічну чистоту методом прямого посіву на чашках

Зразки	Кількість зразку, г	Кількість мікроорганізмів за десятичним логарифмом ступеня росту при культивуванні на твердих поживних середовищах $\times 10$			
		Метод глибокого посіву г препарату в агарі		Метод поверхневого посіву г препарату на агарі	
		Соєво-казеїновий агар 35°C 3–5 діб	Сабуро декстрозний агар 25°C 4–7 діб	Соєво-казеїновий агар 35°C 3–5 діб	Сабуро декстрозний агар 25°C 4–7 діб
Зразок 1	0,1	Зростання мікроорганізмів в відсутнє	Зростання грибів відсутнє	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання грибів відсутнє
	0,01	5,0 $\pm$ 1,0	Зростання грибів відсутнє	7,0 $\pm$ 1,0	Зростання грибів відсутнє
Зразок 2	0,1	Зростання мікроорганізмів в відсутнє	Зростання грибів відсутнє	Зростання мікроорганізмів відсутнє	Зростання грибів відсутнє
	0,01	4,0 $\pm$ 1,0	Зростання грибів відсутнє	5,0 $\pm$ 1,0	Зростання грибів відсутнє

Як вказують дані в таблиці 3, ріст грибів був відсутній при дослідженні всіх зразків. Кількість мікроорганізмів, які виросли на 1 г зразків препарату не перевищувало 10³ КУО/мл, що відповідає вимогам ДФУ.

Далі нами проведені дослідження щодо ефективності консервантів (табл. 4-7).

Таблиця 4. Ефективність консерванту (натрію бензоату) у зразку крему №1 на тест-штамах: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885/653.

Експозиція	Вимоги ДФУ		Логарифм числа мікроорганізмів (КУО/мл)		
	Кількість бактерій КУО/мл Log зменшення	Кількість грибів КУО/мл Log зменшення	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> ATCC 885/653
Мікробне навантаження	10 ⁶	10 ⁶	2,8 $\times$ 10 ⁵ (5,44)	5,5 $\times$ 10 ⁵ (5,74)	2,5 $\times$ 10 ⁵ (5,39)
Первинний посів Log	-	-	5,1 $\times$ 10 ⁴ (0,74)	5,1 $\times$ 10 ⁴ (1,04)	5,2 $\times$ 10 ⁴ (0,68)
2 діб	2	-	3,1 $\times$ 10 ² (2,95)	1,7 $\times$ 10 ³ (2,51)	2,1 $\times$ 10 ⁴ (1,07)
7 діб	3	-	НВ	0,2 $\times$ 10 ² (4,44)	1,2 $\times$ 10 ² (3,31)
14 діб	-	2	НВ	НВ	НВ
28 діб	НЗ	НЗ	НВ	НВ	НВ

* НЗ – мікроорганізми не збільшуються; *НВ – мікроорганізми або гриби не виділяються

Дані таблиці 4 вказують, що після 7-ми діб культивування логарифм зменшення кількості життєздатних клітин грибів складав 3,31 для *Candida albicans*. На 14 та 28 добу життєздатні клітини *Candida albicans* ATCC 885/653 не виділялись. Після 2-х діб культивування логарифм кількості колоній мікроорганізмів складав 2,95 для *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та 2,51 для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. На 7-му добу кількість життєздатних

клітин *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 не реєстрували, для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 складав 4,44. На 14-ту та 28-му добу інкубації колонії *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 не реєструвались. Дослідження даного зразку показало, що від відповідає критерію «А», згідно вимог ДФУ.

Таблиця 5. Ефективність консерванту (натрію бензоату) у зразку крему №1 на тест-штамах: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Експозиція	Вимоги ДФУ		Логарифм числа мікроорганізмів (КУО/мл)		
	Кількість бактерій КУО/мл Log зменшення	Кількість грибів КУО/мл Log зменшення	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Мікробне навантаження	10 ⁶	10 ⁶	5,0x10 ⁵ (5,69)	5,0x10 ⁵ (5,69)	5,5x10 ⁵ (5,74)
Первинний посів Log	-	-	4,5x10 ⁴ (1,04)	3,5x10 ⁴ (1,15)	4,0x10 ⁴ (1,14)
2 діб	2	-	2,5x10 ² (3,3)	3,5x10 ³ (2,15)	2,1x10 ³ (2,42)
7 діб	3	-	НВ	1,6x10 ² (3,49)	1,5x10 ² (3,57)
14 діб	-	2	НВ	НВ	НВ
28 діб	НУ	НУ	НВ	НВ	НВ

* НЗ – мікроорганізми не збільшуються;

*НВ – мікроорганізми або гриби не виділяються

Отримані дані таблиці 5 демонструє дані, що після 2-х діб культивування логарифм кількості колоній мікроорганізмів складав 3,3 для *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та 1,15 для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, для *Escherichia coli* ATCC 25922 - 2,42. На 7-му добу життєздатних клітин *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 не реєстрували, для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 логарифм життєздатних клітин складав 3,49, для

Escherichia coli ATCC 25922 - 3,57. На 14-ту та 28-му добу інкубації колонії *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 не реєструвались. Дослідження даного зразку показало, що від відповідає критерію «А», згідно вимог ДФУ. В таблиці 6 показано дослідження ефективності зразка крему з натрію саліцилатом.

Таблиця 6. Ефективність консерванту (натрію саліцилату) у зразку крему №2 на тест-штамах: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 885/653.

Експозиція	Вимоги ДФУ		Логарифм числа мікроорганізмів (КУО/мл)		
	Кількість бактерій КУО/мл Log зменшення	Кількість грибів КУО/мл Log зменшення	<i>S. aureus</i> ATCC 6538	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> ATCC 885/653
Мікробне навантаження	10 ⁶	10 ⁶	5,0x10 ⁵ (5,69)	5,0x10 ⁵ (5,69)	5,5x10 ⁵ (5,74)
Первинний посів Log	-	-	3,5x10 ⁴ (1,15)	2,2x10 ⁵ (0,35)	3,5x10 ⁴ (1,2)
2 діб	2	-	2,1x10 ³ (2,37)	2,2x10 ⁴ (1,35)	2,1x10 ³ (2,42)
7 діб	3	-	1,5x10 ² (3,52)	1,5x10 ² (3,52)	1,6x10 ² (3,54)
14 діб	-	2	НВ	НВ	НВ
28 діб	НУ	НУ	НВ	НВ	НВ

* НЗ – мікроорганізми не збільшуються; *НВ – мікроорганізми або гриби не виділяються

В таблиці 6 показано, що після 7-ми діб культивування логарифм зменшення кількості життєздатних клітин грибів складав 3,54 для *Candida albicans* ATCC 885/653. На 14 та 28 добу життєздатні клітини *Candida albicans* ATCC 885/653 не виділялись. Після 2-х діб культивування логарифм кількості колоній мікроорганізмів складав 2,37 для *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та 1,35 для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. На 7-му добу

логарифм кількості життєздатних клітин для *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 складав 3,52, для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 складав 3,52. На 14-ту та 28-му добу інкубації колонії *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 не реєструвались. Дослідження даного зразку показало, що від відповідає критерію «А», згідно вимог ДФУ.

Таблиця 7. Ефективність консерванту (натрію саліцилату) у зразку крему №2 на тест-штамах: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853

Експозиція	Вимоги ДФУ		Логарифм числа мікроорганізмів (КУО/мл)		
	Кількість бактерій КУО/мл Log зменшення	Кількість грибів КУО/мл Log зменшення	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922
Микробне навантаження	10 ⁶	10 ⁶	5,0x10 ⁵ (5,69)	5,0x10 ⁵ (5,69)	5,5x10 ⁵ (5,74)
Первинний посів Log	-	-	4,2x10 ⁴ (1,07)	2,5x10 ⁵ (0,3)	4,2x10 ⁴ (1,12)
2 діб	2	-	1,7x10 ³ (2,46)	2,5x10 ⁴ (1,3)	2,3x10 ³ (2,28)
7 діб	3	-	1,9x10 ² (3,42)	1,5x10 ² (3,52)	1,6x10 ² (3,54)
14 діб	-	2	НВ	НВ	НВ
28 діб	НУ	НУ	НВ	НВ	НВ

* НЗ – мікроорганізми не збільшуються; *НВ – мікроорганізми або гриби не виділяються

Дані таблиці 7 свідчать, що після 2-х діб культивування логарифм кількості колоній мікроорганізмів складав 2,46 для *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 та 1,3 для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, для *Escherichia coli* ATCC 25922 - 2,28. На 7-му добу логарифм життєздатних клітин *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 становив - 3,42, для *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 логарифм життєздатних клітин був 3,52, для *Escherichia coli* ATCC 25922 - 3,54. На 14-ту та 28-му

добу інкубації колонії *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 не реєструвались. Дослідження даного зразку показало, що він відповідає критерію «А», згідно вимог ДФУ. Дослідження антибактеріальної дії зразків наведено в таблиці 8.

Таблиця 8. Антибактеріальна дія досліджуваних зразків до тестових мікроорганізмів

№	Зразки	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів в мм					
		<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Pr. vulgaris</i> ATCC 4636	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>C. albicans</i> ATCC885-653
1	Зразок 1	19,0 ± 0,5	18,1 ± 0,5	17,3 ± 0,25	16,1 ± 0,1	19,2 ± 0,1	16,2 ± 0,2
2	Зразок 2	22,1 ± 0,5	20,2 ± 0,3	19,1 ± 0,3	18,4 ± 0,1	21,3 ± 0,1	17,1 ± 0,1

n=5

В результаті скринінгу встановлено, що зразки володіють помірною протимікробною активністю щодо протестованих референтних штамів грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів, а також до клінічних ізолятів мікроорганізмів. Це свідчить про перспективність використання засобу, що розробляється для лікування та профілактики інфекційних уражень шкіри.

Висновки

1. Досліджено протимікробну активність свіжовиготовлених зразків крему, що містили як консерванти натрію бензоат та натрію саліцилат та встановлено, що вони мають антибактеріальну дію по відношенню до широкого кола мікроорганізмів різних таксономічних груп.
2. Результати дослідження з вивчення консервуючої здатності антимікробних консервантів (натрію бензоату та натрію саліцилату) у складі крему довели ефективність двох зразків, які відповідали вимогам ДФУ (критерій «А»).

Перспективи подальших наукових досліджень. Колектив авторів вважає крем, що містить глюкозаміну гідрохлорид та мірамистин є

перспективним для подальших досліджень та використання для запобігання келоїдних рубців, протизапальної, репаративної дії та профілактика інфекційних ускладнень шкіри кукси.

Конфлікт інтересів: відсутній

Research on the antimicrobial preservative selection for the cream containing glucosamine hydrochloride and miramistin

Olena Ruban, Halyna Slipchenko, Tetyana Osolodchenko, Inna Kovalevska, Natalia Khokhlenkova

Introduction. Rehabilitation of individuals with lower limb amputations is a complex challenge that requires combining modern medical advances, prosthetics, and physical therapy. The absence of domestic medications for stump care in the Ukrainian pharmaceutical market is particularly pressing. This creates an urgent need to develop new, effective soft dosage forms that meet patients' needs and support successful rehabilitation. Benzoic acid derivatives, such as sodium benzoate and benzoic acid, are common preservatives. Sodium salicylate is less frequently used as a preservative but has anti-inflammatory and keratolytic properties. The aim of

this work was to select an antimicrobial preservative and determine its optimal concentration for a new cream containing glucosamine hydrochloride and miramistin, intended for skin care of the stump. **Materials and methods.** To evaluate the effectiveness of preservatives and their microbiological purity, two cream samples were tested: one containing sodium benzoate (sample 1) and the other containing sodium salicylate (sample 2). The following strains were used to assess the antimicrobial activity of the samples: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, and *Candida albicans* ATCC 885/653. Microbiological purity tests involved direct inoculation on liquid nutrient media. Specifically, 10.0 mL of soy-casein broth, thioglycolate medium, and Sabouraud liquid medium were poured into sterile test tubes, each receiving 0.1 g and 0.001 g of the studied drug. The cultures were incubated for 14 days in a thermostat at 35°C for soy-casein broth and thioglycolate medium, and at 25°C for Sabouraud medium. The antibacterial properties of the samples were neutralized using an inactivator containing polysorbate-80 (30 g/L) and lecithin (3 g/L). During the study, the deep seeding method was used, involving adding 0.1 g and 0.01 g of the drug to agar, which was then surface seeded with the same amounts. The number of viable microorganisms and fungi was determined after incubation. The criterion for evaluating the antibacterial effectiveness of the preservatives is a reduction in viable microbial colonies over time following contamination. According to the Ukrainian State Pharmacopoeia, for preparations intended for topical use, the logarithm of the decrease in viable bacterial colonies should be at least 2 after 2 days, at least 2 after 7 days, and subsequently, the number of viable bacteria should not increase. **Results and discussion.** The study results showed that after 14 days of incubation on Sabouraud medium, no fungal growth was observed. When testing samples of cream No. 1 and 2 with 0.1 g on soy-casein broth and thioglycolate medium, no microorganisms grew; at 0.01 g, no microorganisms grew in cream No. 2, but growth was seen in cream No. 1. Microscopy revealed gram-positive cocci. Confirmation came from seeding on differential nutrient media. Based on colony morphology and certain biological properties, the isolated microorganisms were identified as *Staphylococcus saprophyticus*. On differential media such as Chystovych's medium and Endo's medium, designed for isolating intestinal group and pathogenic staphylococci, no growth was observed among other microorganisms. Testing surface and deep seeding of preparations on Sabouraud plates showed no fungal growth. When cultured on soy-casein agar, no growth was seen at 0.1 g, while growth occurred at 0.01 g. The preservative effectiveness of a cream sample containing sodium benzoate was tested against strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, and *Candida albicans* ATCC 885/653. This sample met the "A" criterion according to the standards of the State Pharmacopoeia of Ukraine. Similarly, the preservative effectiveness of the cream with sodium benzoate on strains *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Pseudomonas*

aeruginosa ATCC 27853 also met the "A" criterion. The preservative efficacy of the cream with sodium salicylate was tested on strains: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, and it satisfied the "A" criterion as per the Ukrainian State Pharmacopoeia. The antibacterial effect of the studied samples on test microorganisms was confirmed. Considering the diameters of growth retardation zones, the cream containing sodium salicylate demonstrated the best performance.

Key words: antimicrobial activity, microbiological purity, cream.

References

1. Bacteriological control of nutrient media. Information letter from the Ministry of Health of Ukraine №. 05.4.1/1670, Kyiv, 2001.
2. Borshchevsky G. I., Raiko Z. O., Reida V. P. Testing the effectiveness of antimicrobial preservatives in the drug "EFIAL." *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. No. 1. Pp. 44–48.
3. Crovetto S. I., Moreno E., Dib A. L., Espigares M., Espigares E. Bacterial toxicity testing and antibacterial activity of parabens. *Toxicological & Environmental Chemistry*. 2017. P. 113–124.
4. European Commission (Ed.) Commission Regulation (EU) 2017/1224 of 6 July 2017 Amending Annex V to Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council on Cosmetic Products. Brussels, Belgium: European Commission, 2017.
5. Gorlachova V. I., Vishnevskaya L. I. Doslidzhennya efektyvnosti antymikrobnih konservativ z metoyu udoskonalennya skladu Ilkarskogo kosmetichnogo zasobu protizapalnoi diyi. *Ukrayinskiy blofarmatsevtichniy zhurnal*. 2016; T.1. 42: 16 - 20.
6. Lalitha Ch., Prasada Rao P. V. V. Antimicrobial efficacy of low level cosmetic preservatives. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014; 3. 2: 1685-1696.
7. Merchel Piovesan Pereira B, Tagkopoulos I. Benzalkonium Chlorides: Uses, Regulatory Status, and Microbial Resistance. *Appl Environ Microbiol*. 2019;85(13):e00377-19. Published 2019 Jun 17. doi:10.1128/AEM.00377-19
8. Microbial Quality Considerations in Non-sterile Drug Manufacturing: Guidance for Industry (Draft). Updated Sept. 2021; Accessed Oct 2023.
9. Mohammed D, Issa H. Mini-Review on Sodium Benzoate: Its Uses, Adverse Effects, and Environmental Impact as a Pharmaceutical Product. *ChemRxiv*. 2024; doi:10.26434/chemrxiv-2024-zvn5k
10. On approval of methodological guidelines "Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs": Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 05.04.2007 No. 167. *News of medicine and pharmacy*. 2007. No. 18. P. 1–7.
11. On approval of the procedure for conducting preclinical studies of medicinal products and examination of materials of preclinical studies of medicinal products: Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 14.12.2009 No. 944. URL: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z0053-10/>

12. Pelekh I.R., Bilous S.B., Vildanova R.I., Shulha O.M. Prospects of Surfactants of Microbial Origin in the Medicinal and Cosmetic Products // *Pharmaceutical review*. 2016. № 1. P. 108–112
13. Standardization of microbial suspension preparation: Information letter on innovations in the Ukrainian healthcare system No. 163-2006. / Yu. L. Volyansky et al. Kyiv: Ukrmedpatentinform, 2006. 10 p.
14. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products”. 2nd ed. Extra 3. - Kharkiv: State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Drugs”, 2018. 416 p.
15. State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 v. / State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products”. 2nd ed. - Kharkiv: State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Drugs”, 2015. V. 1. 1128 p
16. Stroppel L, Schultz-Fademrecht T, Cebulla M, Blech M, Marhöfer RJ, Selzer PM, Garidel P. Antimicrobial Preservatives for Protein and Peptide Formulations: *An Overview*. *Pharmaceutics*. 2023; 15(2):563.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020563>
17. Study of the specific activity of antimicrobial drugs: methodological recommendations / Yu. L. Volyansky et al. Kyiv: DFTS of the Ministry of Health of Ukraine, 2004. 38 p.