

# Konserwacja przeciwdrobnoustrojowa leków

Zygmunt Muszyński<sup>1</sup>, Magdalena Ratajczak<sup>1</sup>

Katedra i Zakład Bakteriologii Farmaceutycznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

**Antimicrobial preservation of pharmaceuticals** · The drug contamination with microorganisms may be both a source and medium of patient infection. Chemical preservation of drugs aims at either keeping them sterile or maintaining the specified microbiological purity by protecting them against secondary contamination and the development of microorganisms during storage and usage of the drug e.g. from the multiple usage packages such as eye drops. The research included test microorganisms, the preparation of tested suspension, chemical characteristics, methods of research in preservation test and acceptance criteria of antimicroorganism activity evaluation during the 28 days of conducting the preservation test for the parenteral and eye pharmaceuticals, topical and oral preparations.

**Keywords:** preservation, chemicals, effectiveness, acceptance criteria

**K**onserwacja leków ma na celu zachowanie jałowości lub wymaganej czystości mikrobiologicznej leku przez cały okres jego przydatności oraz ochronę gotowego leku przed wtórnym zanieczyszczeniem i rozwojem drobnoustrojów podczas przechowywania lub pobierania z opakowań przeznaczonych do wielokrotnego użytku [1, 2].

Konserwację zaleca się, gdy postać lub skład leku sprzyjają przeżyciu i rozwojowi drobnoustrojów, stosuje się ją zarówno dla preparatów jałowych np. kropli ocznych, jak i tych, dla których jałowość nie jest wymagana. Zanieczyszczenie leku drobnoustrojami może być źródłem zakażenia u pacjenta leczonego danym preparatem, może także spowodować rozkład substancji czynnych zawartych w leku, co może ograniczyć jego przydatność terapeutyczną. Dodawanie środków konserwujących nie może jednak zastępować Zasad Dobrej Praktyki Wytwarzania (GMP) [3–5].

Środki konserwujące to substancje chemiczne, które dodane do leku zabezpieczają go przed rozwojem drobnoustrojów. Mogą to być substancje bakteriostatyczne, uniemożliwiające rozmnażanie się drobnoustrojów obecnych w lekach, dla których nie jest wymagana jałowość lub dostających się do leku podczas jego nieaseptycznego stosowania. Dotyczy to głównie preparatów doustnych oraz stosowanych

zewnętrznie. Substancja o właściwościach bakterio-bójczych musi niszczyć drobnoustroje, które mogłyby dostać się do leku podczas jego stosowania. Takie substancje dodaje się przede wszystkim do leków jałowych, np. preparatów do oczu, rzadziej iniekcyjnych oraz niektórych środków stosowanych zewnętrznie [3, 6, 7].

Rozwój drobnoustrojów zależy od wielu czynników związanych z samym lekiem, należy wśród nich wymienić skład leku, jak np. składniki pochodzenia biologicznego, postać leku – bakterie lepiej się rozmnażają w leku płynnym niż np. w maści, a ich rozwój zależy od typu emulsji O/W lub W/O, oraz właściwości hydrofobowych. Ważnym czynnikiem są również warunki produkcji oraz stopień ochrony leku przed wtórnym zanieczyszczeniem mikrobiologicznym. Związek chemiczny, aby mógł służyć do konserwacji, musi odpowiadać określonym wymaganiom ustalonym z punktu widzenia bezpieczeństwa chorego i zachowania odpowiedniej jakości leku.

## Cechy dobrego środka konserwującego wg [2–4]

- Cechy związku:
  - rozpuszczalność w leku w wymaganym do konserwacji stężeniu,
  - właściwości lipofilowe i hydrofilowe,
  - brak zapachu, smaku i barwy,
  - trwałość i aktywność bójcza w środowisku o różnym pH i temperaturze,
  - brak wpływu na działanie farmakologiczne leku nawet w czasie długiego przechowywania,
  - odporność na działanie światła i tlenu;
- Działanie na drobnoustroje:
  - działanie w niskich stężeniach,
  - szybkie działanie przeciwbakteryjne,
  - trudności w wytwarzaniu form opornych;
- Działanie na organizm człowieka:
  - brak działania toksycznego, alergizującego i drażniącego.

Do chwili obecnej nie znaleziono związku chemicznego, który w pełni odpowiadałby wszystkim tym wymaganiom, każdy ze stosowanych ma pewne ograniczenia. Niektóre ze znanych związków przeciwbakteryjnych są bliższe tym wymaganiom i znalazły zastosowanie w konserwacji leków. Środki konserwujące wywodzą się z grupy substancji o działaniu przeciwbakteryjnym, stosowanych w dezynfekcji, antyseptyce, a niekiedy także w chemioterapii. Należą do różnych grup chemicznych i różny jest zakres ich działania. W stężeniach stosowanych do konserwacji leków spełniają podstawowe zadania – uniemożliwiają rozwój drobnoustrojów, czyli działają bakteriostatycznie lub zabijają drobnoustroje – działają bakteriobójczo [2, 5].

### Formy leków, w których należy stosować chemiczne środki konserwujące wg [4, 5]

- leki do oczu z wyjątkiem pojemników jednodawkowych [8–10]
- roztwory iniekcyjne i zawiesiny (pojemniki wielodawkowe, surowice i szczepionki np. autoszczepionki, organopreparaty) [11]
- krople do nosa [3]
- leki doustne [12, 13]
- roztwory leków stosowanych zewnętrznie oraz maści o charakterze emulsji np. typu O/W i W/O [3].

### Czynniki warunkujące skuteczność działania środka konserwującego [2, 3, 5, 14]

Środki konserwujące wykazują różną aktywność i różny zakres działania przeciwdrobnoustrojowego. Jest to związane z ich budową chemiczną i mechanizmem działania na żywą komórkę. Dlatego w różnym pH lub różnym składzie środowiska konserwanty mogą być skuteczne w stosunku do pewnych grup drobnoustrojów. Stopień aktywności zależy także od stężenia danego konserwantu. Drobnoustroje charakteryzują się określonymi właściwościami gatunkowymi wynikającymi z cech ich metabolizmu oraz obecnych w nich enzymów, i to decyduje o stopniu i rodzaju wrażliwości na niszczące je związki chemiczne. Z punktu widzenia potrzeb konserwacji różnych grup leków najważniejsza wydaje się aktywność w stosunku do pałeczek Gram-ujemnych *Pseudomonas aeruginosa* w lekach do oczu, rodzaju *Pseudomonas* i gronkowców w lekach dermatologicznych oraz grzybów w lekach doustnych.

Najczęściej stosowane środki konserwujące należą do grupy fenoli, alkoholi, kwasów organicznych, biguanidów, organicznych związków rtęciowych i czwartorzędowych zasad amoniowych, możliwe jest wykorzystanie działania wspomagającego EDTA lub addycji czy synergizmu dla działania środków

konserwujących np. na pałeczkę *Pseudomonas aeruginosa* kroplach do oczu [3–5, 14].

### Fenol i jego pochodne

Fenol to substancja stała, rozpuszczalna w wodzie w ilości 6,7%. Jest używany do konserwacji surowic i szczepionek oraz heparyny w stężeniu od 0,4 do 0,5%. W zakresie pH 3–6 0,2% stężenie fenolu wystarcza do konserwacji insuliny cynkowo-protaminowej. Fenol najskuteczniej działa w środowisku kwaśnym, jego siła działania obniża się w obecności substancji organicznych i olejów, a zwiększa w obecności chlorku sodowego lub oleinianu sodowego oraz alkoholi. Wykazuje działanie na formy wegetatywne pałeczek Gram-ujemnych – w stężeniu polecanym do konserwacji niszczy je w czasie do 8 godzin. Nie działa na grzyby i formy przetrwalnikowe bakterii. Silniejsze działanie przeciwbakteryjne wykazują alkilowe pochodne fenolu, a jego działanie wzmacnia się po wprowadzeniu do jego cząsteczki atomu chlorowca. Z pochodnych fenoli wymienia się przede wszystkim krezole, chlorokrezole oraz heksachlorofen, obecnie wycofany z użytku z powodu działania toksycznego. Krezole są bójcze dla form wegetatywnych bakterii, ale źle rozpuszczalne w wodzie, co ogranicza ich zastosowanie. Są stosowane do konserwacji szczepionek w stężeniu 0,5% i surowic w stężeniu 0,3–0,4%.

### Alkohole i ich pochodne

Z alkoholi, które znalazły zastosowanie w konserwacji leków należy wymienić: alkohol etylowy, benzylowy, glikol propylenowy, chlorobutanol i alkohol fenyloetylowy. Alkohol etylowy w stężeniu 25% jest stosowany do konserwacji szczepionek, alkohol benzylowy w stężeniu 1–3% używany jest do konserwacji roztworów przeznaczonych do iniekcji. Chlorobutanol w stężeniu 0,2–0,5% jest polecany do konserwacji kropli i maści do oczu, kropli do nosa i niektórych leków parenteralnych. Najsilniej działa na drobnoustroje Gram-ujemne, słabiej na *Pseudomonas aeruginosa*, przy zastosowaniu w stężeniu 0,5% niszcza je w czasie około 1 godziny.

### Kwasy

Spośród kwasów używanych w konserwacji należy wymienić kwas benzoesowy, dehydrooctowy,

Konserwacja leków ma na celu zachowanie jakości lub wymaganej czystości mikrobiologicznej leku przez cały okres jego przydatności oraz ochronę gotowego leku przed wtórnym zanieczyszczeniem i rozwojem drobnoustrojów podczas przechowywania lub pobierania z opakowań przeznaczonych do wielokrotnego użytku.

sorbowy i borowy. Kwasy należą do środków konserwujących używanych głównie do leków podawanych doustnie oraz do stosowania zewnętrznego w postaci maści i zasypek, są bardzo aktywne w niskich pH. Działają głównie na grzyby oraz na niektóre bakterie. Kwas benzoesowy jest polecany do konserwacji w stężeniu od 0,04 do 0,2%, optimum jego działania przeciwbakteryjnego przypada na pH poniżej 5. Kwas sorbowy jest stosowany głównie do zahamowania rozwoju pleśni i drożdży w stężeniu od 0,05 do 0,2%. Używa się go do konserwacji leków doustnych, np. syropów, maści i emulsji.

### **Estry kwasu p-hydroksybenzoesowego (parabeny, nipaginy, aseptyny)**

Środki te są znane jako związki o działaniu przeciwbakteryjnym od lat 30. XX wieku. Do konserwacji leków używane są estry metylowy, propylowy i butylowy. Znalazły one zastosowanie w lekach do oczu w stężeniach 0,065–0,15% oraz w maściach i lekach doustnych w stężeniu 0,5%. Zaletą nipagin jest mała toksyczność i działanie w szerokim zakresie pH (4–8). Nie tworzą niezgodności recepturowych, toteż można je dodawać do wielu leków. Wadą nipagin jest ich ograniczona rozpuszczalność, dlatego stężenia możliwe do stosowania w lekach okazały się tylko bakteriostatyczne.

### **Organiczne związki rtęci**

Spośród związków rtęci w praktyce farmaceutycznej znalazły zastosowanie połączenia organiczne, ponieważ zawierają trudno uwalniający się jon rtęci, są aktywniejsze od nieorganicznych, mało toksyczne i mało drażniące. Mechanizm działania przeciwbakteryjnego związków rtęci polega na ich łączeniu z białkami komórki bakteryjnej. Są polecane do konserwacji leków do oczu, rzadziej roztworów iniekcyjnych – np. autoszczepionek. Sole fenylortęciowe są polecane do konserwacji kropli ocznych i innych leków wielodawkowych. Najczęściej stosuje się azotan fenylortęciowy w stężeniu 0,002%, rzadziej boran, octan

**Tabela 1.** Zalecane mieszaniny środków konserwujących do leków do oczu wg FP V (1996)

I	bromek benzalkoniowy	0,005%
	octan chlorheksydyny	0,01%
II	bromek benzalkoniowy	0,005%
	alkohol β-feniloetylowy	0,4%
III	boran fenylortęciowy	0,001%
	alkohol β-feniloetylowy	0,4%
IV	tiomersal	0,02%
	alkohol β-feniloetylowy	0,4%
V	boran fenylortęciowy	0,001%

fenylortęciowy oraz etylortęciotiosalicylan sodu (tiomersal). Tiomersal jest bardzo dobrze rozpuszczalny w wodzie, do konserwacji polecany w stężeniach od 0,1 do 0,001%, używany do konserwacji kropli do oczu głównie z antybiotykami. Działa skutecznie na formy wegetatywne bakterii, silniej na drobnoustroje Gram-dodatnie niż Gram-ujemne.

### **Czwartorzędowe związki amoniowe**

Najczęściej do konserwacji stosuje się chlorek i bromek benzalkoniowy oraz cetrimid. Ich zastosowanie ogranicza łatwość, z jaką bakterie (np. pateczka *Pseudomonas aeruginosa*) nabywają na nie oporność oraz to, że są łatwo adsorbowane np. przez gumę i tworzywa sztuczne, co ma znaczenie podczas przechowywania leków w opakowaniach z tworzyw sztucznych z zatyczką gumową. Zaletą czwartorzędowych związków amoniowych jest ich mała toksyczność i szybkie działanie bakteriobójcze. Są stosowane w konserwacji preparatów do użytku zewnętrznego i leków do oczu.

### **Bronopol**

Jest to związek dobrze rozpuszczalny w wodzie, aktywny wobec licznych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych. Działa aktywnie w środowisku kwaśnym w stężeniu 0,2–0,5%, a podwyższenie temperatury zwiększa jego działanie. W stężeniach używanych w konserwacji jest mało toksyczny i nie ma działania drażniącego, dlatego jest używany jako środek konserwujący w maściach i kosmetykach.

### **Chlorheksydyna**

Znalazła szerokie zastosowanie w medycynie zarówno ze względu na właściwości przeciwbakteryjne i małą toksyczność. Najlepiej działa w środowisku o lekko alkalicznym pH. Jest stosowana głównie do konserwacji leków do oczu, kropli do nosa, leków zewnętrznych i doustnych w stężeniu od 0,01 do 0,05% w postaci dwuglukonianu lub dwuoctanu. Działanie bakteriobójcze chlorheksydyny jest bardzo wolne, a drobnoustroje szybko stają się nań odporne, toteż jej zastosowanie jest ograniczone. Zalecane jest jej stosowanie w mieszaninie z innymi związkami przeciwbakteryjnymi.

### **Środki konserwujące zalecane do stosowania w lekach do oczu**

W polskich badaniach doświadczalnych przeprowadzono analizę mikrobiologicznej skuteczności związków konserwujących stosowanych w 30 najczęściej wytwarzanych lekach do oczu z uwzględnieniem kryterium mikrobiologicznego, jak również niezgodności

recepturowych. Listę zalecanych dla leków do oczu mieszanin środków konserwujących przedstawiono w tabeli 1, wybrane synergistyczne połączenia środków konserwujących i EDTA – w tabeli 2.

**Alfabetyczny wykaz środków konserwujących, mogących wchodzić w skład produktów leczniczych, wg załącznika do rozporządzenia ministra zdrowia z dnia 16 stycznia 2003 r. w sprawie środków konserwujących, barwników i przeciwutleniaczy, które mogą wchodzić w skład produktów leczniczych**

- alkohole: benzylowy, etylowy, fenyletylowy, izopropylowy, chlorbutanol,
- chlorek i bromek benzalkoniowy,
- bromek benzododecyniowy,
- bronopol,
- cetrimid,
- chlorek benzoksoniowy, benzetonowy i cetylopi-rydyniowy,
- chlorowodorek, dwyglukonian i octan chlorheksy-dyny,
- fenol,
- fenoksyetanol,
- krezol, chlorokrezol,
- glikol propylenowy,
- p-hydroksybenzoesany – benzylu, butylu, etylu, metylu i propylu,
- kwasy: benzoesowy i jego sól sodowa, dehydrooc-towy i jego sól sodowa, propionowy i jego sole so-dowa i wapniowa, sorbowy i jego sole potasowa, sodowa i wapniowa,
- sole fenylortęciowe, np. boran, azotan, octan,
- tiomersal (etylortęciosalicylan sodu),
- tymol.

**Badanie skuteczności ochrony przeciwdrobnoustrojowej – test konserwacji [2, 3, 5]**

W badaniu miesza się badany preparat, najlepiej w końcowym pojemniku, z określonym *inokulum* odpowiednich drobnoustrojów (tabela 3), inkubuje go w określonej temperaturze, pobiera się próbki z pojemnika w ściśle określonych odstępach czasu i oznacza się w nich jkt/ml – liczbę żywych komórek drobnoustrojów.

W razie potrzeby przedstawiony w tabeli wykaz może być poszerzony o inne drobnoustroje, reprezentujące możliwe zanieczyszczenia leku lub preparatu w czasie jego produkcji, transportu, przechowywania i stosowania, jak np. pałeczka *Listeria spp.* dla suplementów diety [3].

W teście konserwacji [2, 3, 8, 9, 17] ustalono najważniejsze parametry – wybór szczepów testowych,

**Tabela 2.** Wybrane synergistyczne połączenia związków konserwujących i EDTA wg [2, 3, 5, 15, 16]

Związek konserwujący	Stężenie [%]	Połączenie	Stężenie [%]
chlorek benzalkoniowy	0,01	azotan fenylortęciowy	0,001
	0,01	chlorbutanol	0,5
	0,005	chlorheksydyna	0,002
	0,005	β-fenyletanol	0,4
	0,01	EDTA	0,05
bromek benzalkoniowy	0,01	EDTA, cetrimid	0,1
	0,01	EDTA	0,05
	0,005	chlorheksydyna	0,002
chlorheksydyna	0,005	β-fenyletanol	0,4
	0,005	bronopol	0,05
	0,002	chlorek lub bromek benzalkoniowy	0,005
chlorokrezol	0,01	bronopol	0,05
	0,01	β-fenyletanol	0,4
	0,01	EDTA	0,05
chlorbutanol		chlorokrezol	0,05
	0,05	β-fenyletanol	0,4
nipagina M + P	0,05	EDTA	0,05
	0,065	β-fenyletanol	0,4
azotan i boran fenylortęciowy	0,5	β-fenyletanol	0,4
	0,004	β-fenyletanol	0,4
azotan fenylortęciowy	0,002	β-fenyletanol	0,4
		EDTA	0,05
mertiolat	0,01	β-fenyletanol	0,4
bronopol	0,2	β-fenyletanol	0,4

(tabela 3), wymagane *inokulum* wprowadzane do leku, czas kontaktu szczepu z lekiem, pożądany stopień przeżycia drobnoustrojów, czas trwania i liczbę przeprowadzonych badań. Do badań wybrano bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne, drożdże i pleśnie, biorąc pod uwagę drobnoustroje chorobotwórcze i drobnoustroje będące ogólnym wskaźnikiem stanu higienicznego oraz mogące wpływać na procesy rozkładu leku. Test konserwacji, poza kryteriami mikrobiologicznymi, bywa rozumiany także jako badanie oceniające trwałość środka konserwującego w czasie, dające także pośrednie informacje o jego rozkładzie i adsorpcji. Zwraca się uwagę na zależność tych zjawisk od wielu czynników, a zwłaszcza zależność stopnia adsorpcji i rozkładu środka konserwującego od stopnia zanieczyszczenia leku. Jakość konserwacji i jej skuteczność można ocenić również przez badanie ubytku środka konserwującego po zastosowaniu sztucznego zanieczyszczenia preparatu. Zależność między tymi zjawiskami a wielkością zanieczyszczenia jest wprost proporcjonalna.

**Tabela 3.** Drobnoustroje testowe wg. FPVII, tom 1 (2006)

Nazwa rodzaju i gatunku	Kolekcja
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538, NCTC 10788, NCIMB 9518, CIP 4.83
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231, NCPF 3179 IP 48.72
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 16404 IMI149007 IP1431.83
<i>Escherichia coli</i> *	ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126
<i>Zygosaccharomyces rouxi</i> **	NCYC 381, IP 2021.92

\* Szczep zalecany w badaniu preparatów doustnych.

\*\* Szczep zalecany w badaniu preparatów doustnych zawierających duże ilości cukru.

Kryteria akceptacji, w zakresie obniżenia liczby komórek drobnoustrojów w czasie, są różne dla różnych kategorii preparatów w zależności od zamierzonego stopnia ochrony. Spośród różnych metod stosowanych w badaniu oceniającym skuteczność działania związków konserwujących należy wymienić określanie najmniejszych stężeń hamujących wzrost drobnoustrojów – bakteriostatycznych (MIC) i bakteriobójczych (MBC). Ma ono charakter ogólnie orientacyjny i używa się go do analizy wstępnej. Za najbardziej wiarygodny test uważa się badanie przeżywalności drobnoustrojów w czasie po ich sztucznym wprowadzeniu do środowiska preparatu leczniczego. Poza tymi testami w ocenie działania związków konserwujących analizuje się narastanie oporności oraz trwałości substancji w czasie. Badania te są traktowane jako testy dopełniające, należy podkreślić znaczenie wykonywania walidacji testu konserwacji preparatów [3].

W ocenie związków konserwujących stosuje się niekiedy badania *in vivo*. Dotyczy to analizy działań niepożądanych oraz testów potwierdzających *in vivo* wyniki badań uzyskanych w analizie *in vitro*.

**Tabela 4.** Preparaty pozajelitowe i do oczu – wymagane kryteria skuteczności środków konserwujących wg FP VII, tom 1 (2006)

Drobnoustroje	Kryterium	Log redukcji				
		6 h	24 h	7 dni	14 dni	28 dni
Bakterie	A	2	3	–	–	BW*
	B	–	1	3	–	BN**
Grzyby	A	–	–	2	–	BN
	B	–	–	–	1	BN

\* BW – brak wzrostu zdolnych do życia drobnoustrojów

\*\* BN – liczba drobnoustrojów nie większa się

### Zawieszona metoda badania wg FP VII tom 1 (2006)

Zawiesinę każdego szczepu należy aseptycznie dodać do odrębnego pojemnika z badanym produktem tak, aby otrzymać 10<sup>5</sup> do 10<sup>6</sup> jtk w 1 ml lub 1 g preparatu. Dokładnie wymieszać, przechowywać produkt w temperaturze 20–20°C i chronić przed światłem. Pobrać 1 ml lub 1 g w odstępach czasu określonych dla rodzaju produktu. Oznaczyć wartość jtk/ml lub g zdolnych do życia drobnoustrojów.

### Metoda z użyciem sączków membranowych wg FP VII tom 1 (2006)

Stosuje się w niej sączki membranowe o wielkości porów nie większej niż 0,45 µm, dla których udowodniono skuteczność zatrzymywania bakterii. Odpowiednią objętość preparatu należy przenieść na sączek membranowy i niezwłocznie przesączyć. Sączek przemywa się trzema porcjami, każda po ok. 100 ml, odpowiedniego płynu, np. zbuforowanym roztworem chlorku sodu z peptonem o pH 7,0 i przenosi na podłoże agarowe z hydrolizatem kazeiny i soi. Płytki inkubuje się w temp. 30–35°C przez 5 dni. Sączek przeznaczony do oznaczania liczby grzybów należy przenieść na podłoże agarowe Sabouraud. Płytki inkubuje się w temp. 20–25°C przez 5 dni. Wybiera się płytki z największą liczbą kolonii, ale mniejszą niż 100 i oblicza jtk w gramie lub mililitrze badanego produktu.

### Metoda bezpośredniego posiewu wg FP VII tom 1 (2006)

Metoda płytek lanych. Do każdej płytki Petriego odmierza się 1 ml próbki i 15 ml upłynnionego podłoża agarowego z hydrolizatem kazeiny do hodowli bakterii lub podłoża Sabouraud do hodowli grzybów. Temperatura upłynnionego podłoża nie może być wyższa niż 45°C. Płytki inkubuje się przez 5 dni w temp. 30–35°C (bakterie) lub 20–25°C (grzyby). Wybiera się płytki odpowiadające jednemu rozcieńczeniu z największą liczbą kolonii, mniejszą niż 300 (100 kolonii grzybów). Oblicza się średnią arytmetyczną i przelicza wynik na liczbę jtk w gramie lub mililitrze.

Metoda posiewu powierzchniowego. Po osuszeniu w cieplarni płytek Petriego z podłożem agarowym z hydrolizatem kazeiny i soi i podłożem agarowym Sabouraud rozprowadza się po powierzchni podłoża odmierzoną objętość 0,1 ml badanej próbki. Na każde badanie używa się dwóch płytek. Należy je inkubować przez 5 dni w temp. 30–35°C (bakterie) lub 20–25°C (grzyby). Wybiera się płytki odpowiadające jednemu rozcieńczeniu z największą liczbą kolonii, mniejszą niż 300 (100 kolonii grzybów), oblicza średnią arytmetyczną i przelicza wynik na liczbę jtk w gramie lub mililitrze.



### Wymagane kryteria skuteczności środków konserwujących wg FP VII tom 1 (2006)

Kryteria oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej podano w tabelach 4–6, wyrażając je jako logarytm redukcji liczby zdolnych do życia drobnoustrojów w czasie 28 dni w stosunku do wartości uzyskanej dla poziomu zanieczyszczenia wyjściowego.

Właściwości konserwujące preparatu są odpowiednie, jeżeli w warunkach badania po określonym czasie i w określonej temperaturze w zanieczyszczonym drobnoustrojami testowymi preparacie następuje znaczący spadek lub nie dochodzi do wzrostu liczby żywych komórek drobnoustrojów (jtk) po 28 dniach.

#### Podsumowanie

Na rzeczywistą aktywność związków konserwujących wpływa wiele czynników związanych z właściwościami samych związków i warunkami środowiska, w którym kontaktują się one z drobnoustrojami. Na stopień działania wpływa odczyn środowiska, temperatura i obecność związków powierzchniowoczynnych. Ważnym czynnikiem jest postać leku. Przykładem jest lek dwufazowy w postaci maści, w którym o aktywności związku konserwującego decyduje współczynnik rozdzielenia między fazy emulsji leku. Na skuteczność wpływa również zjawisko adsorpcji związku na niektórych elementach opakowania (guma, tworzywa sztuczne). Skuteczny związek przeciwbakteryjny niekiedy nie może być stosowany do danego leku z powodu tworzenia niezgodności recepturowych [2, 3, 5]. O możliwości zastosowania w konserwacji decyduje również stopień toksyczności. Występujące czasem działanie drażniące lub alergizujące dyskwalifikuje związek jako czynnik konserwujący i uniemożliwia wprowadzenie go do leku.

#### Piśmiennictwo

- Lingnau J.: Die Möglichkeiten zur Konservierung pharmaceutischer Zubereitungen. Pharm. Ind., 1970, 32, 266.
- Muszyński Z.: Środki konserwujące dla preparatów farmaceutycznych, W: Przygotowanie i kontrola mikrobiologiczna leków i materiałów medycznych (red. W. Kędzia.), PZWL, Warszawa 1978, 189-207.
- Muszyński Z.: Badania własne, 2005-2007, wyniki niepublikowane.
- Muszyński Z., Ratajczak M.: Monitoring mikrobiologiczny środowiska produkcji leków, Farm. Pol. 2008, 64/14, 637.
- Parnowska W.: Konserwacja leków. W: Mikrobiologia farmaceutyczna, Problemy produkcji i kontroli leków (red. W. Parnowska), PZWL, Warszawa 1998, 91-115 i 186-198.

Tabela 5. Preparaty do stosowania miejscowego – wymagane kryteria skuteczności środków konserwujących wg FP VII, tom 1 (2006)

Drobnoustroje	Kryterium	Log redukcji			
		2 dni	7 dni	14 dni	28 dni
Bakterie	A	2	3	–	BN*
	B	–	–	3	BN
Grzyby	A	–	–	2	BN
	B	–	–	1	BN

\* BN – liczba drobnoustrojów nie zwiększa się

Kryterium A wyraża zalecaną skuteczność przeciwdrobnoustrojową. W przypadkach gdy kryterium A nie może być przyjęte z przyczyn zwiększonego ryzyka działań niepożądanych należy przyjąć kryterium B.

Tabela 6. Preparaty doustne – wymagane kryteria skuteczności środków konserwujących wg FP VII, tom 1 (2006)

Drobnoustroje	Log redukcji	
	14 dni	28 dni
Bakterie	3	BN*
Grzyby	1	BN

\* BN – liczba drobnoustrojów nie zwiększa się

- Fels P.: Antimicrobial preservation. Pharm. Ind., 1987, 49, 1.
- Guide to Good Manufacturing Practice for pharmaceutical products. Pharmaceutical Inspection Convention (PIC), PH 5/92, 1992.
- Woźniak-Parnowska W., Zembrzuska E., Milewska E.: Badanie działania przeciwbakteryjnego związków konserwujących w różnych postaciach leków ocznych. Farm. Pol. 1979, 35, 269.
- Woźniak W., Zembrzuska E.: Z badań nad działaniem antybakteryjnym związków konserwujących leki oczne. Farm. Pol. 1974, 30, 749.
- Zembrzuska E.: Badania skuteczności działania przeciwbakteryjnego związków konserwujących krople oczne. I-Ocena działania bakteriobójczego związków pojedynczych. Farm. Pol. 1978, 34, 179.
- Zembrzuska-Sadkowska E.: Skuteczność konserwacji leków recepturowych w szpitalu. Farm. Pol. 1992, 48, 275.
- Zembrzuska-Sadkowska E.: Mikrobiologiczne badanie jakości wybranych leków doustnych i warunków ich właściwej konserwacji. I. Badanie syropów: Calcium i Salbutamol. Farm. Pol. 1988, 44, 393.
- Zembrzuska-Sadkowska E., Warakso B., Woźniak-Parnowska W.: Mikrobiologiczne badanie jakości wybranych leków doustnych i warunków ich właściwej konserwacji. II. Badanie Gelatum Aluminium Phosphorici i jego półproduktu. Farm. Pol. 1988, 44, 530.
- III Report of the Committee of FIP. The Test for the Effectiveness Antimicrobial Preservation of Pharmaceuticals. Pharm. Acta Helv., 1980, 55, 40.
- Zembrzuska E.: Badania skuteczności działania przeciwbakteryjnego związków konserwujących krople oczne. II. Poszukiwanie skutecznych mieszanin. Farm. Pol. 1978, 34, 233.
- Zembrzuska E.: Badania skuteczności działania przeciwbakteryjnego związków konserwujących krople oczne. III. Ocena działania bakteriobójczego wybranych mieszanin w środowisku leku. Farm. Pol. 1978, 34, 301.
- Woźniak-Parnowska W., Zembrzuska E.: Szybkość działania bakteriobójczego farmakopealnych związków konserwujących. Acta Polon. Pharm. 1976, 33, 107.