

- «Aqua - Ukraine 2006». International Forum «Ecological Technologies – 2006». 2006 : 338 – 339 (in Ukrainian).
7. Yaroshenko K.K., Shabanov M.V. Efektyvnist koahuliatsiinoho ochyshchennia vodnykh stokiv keramichnogo vyrobnytstva [The efficiency of coagulation treatment of water effluents of ceramic production]. In : Zbirnyk naukovykh prats Instytutu heokhimii navkolyshnoho seredovyshcha [Collection of scientific works of the Institute of Environmental Geochemistry]. Kyiv : IGNS ; 2011 ; 19 : 95-101 (in Ukrainian).
 8. Andrusishina I.M. Aliuminii u pytnii vodi ta zdorovia liudyny [Aluminium in drinking water and healthy people]. Kyiv ; 2018 : 38 p. (in Ukrainian).
 9. Shtabskiy B.M., Hzhhotskiy M.R. Xenobiotics, chemical homeostasis and human security. Lviv : Nautilus ; 1999 : 308 p.
 10. Belkin A.D., Michurina S.V., Shulgyna A.V., Arkhipov S.A. et al. Effect of magnetic field and constantly industrial frequency lighting on blood rat. Hygiene and sanitation. 2005 ; 5 : 37-40.
 11. Principles and methods for assessing direct immunotoxicity associated with exposure to chemicals. Geneva : WHO ; 1996 : 390 p.
 12. Pishak V.P., Vysotska V.G., Magallas V.M. et al. Laboratorni tvaryny v medyko-bilohichnykh eksperymentakh [Laboratory Animals in Medical and Biological Experiments]. Chernivtsi : Medical University ; 2006 : 350 p. (in Ukrainian).
 13. Antomonov M.Yu. Matematicheskaya obrabotka i analiz mediko-biologicheskikh dannykh [Mathematical Processing and Analysis of Biomedical Data]. Kyiv ; 2018 : 579 p. (in Russian).

Надійшла до редакції / Received: 11.10.2021

<https://doi.org/10.32402/hygiene2021.71.117>
УДК 613.49:579.63

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЗУБНИХ ПАСТ ЗА МІКРОБІОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ В УКРАЇНІ

Олійник З.А., Сурмашева О.В., Желуденко Ю.В.

ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМНУ», м. Київ

Мета. Провести мікробіологічні випробування зразків зубної пасти із верифікацією методик для підтвердження здатності забезпечувати виявлення мікроорганізмів у присутності зразка.

Об'єкт і методи дослідження. Випробування зразків зубної пасти із вмістом активованого вугілля проводили згідно ГОСТ 7983-99. Використовували деякі живильні середовища, тест-мікроорганізми та принципи верифікації методик згідно ДФУ.

Результати дослідження та їх обговорення. При обліку результатів випробувань в негативних контролях ріст мікроорганізмів не спостерігався, в усіх позитивних контролях спостерігався типовий ріст використаних тест-штамів - результати дослідження вважали дійсними. За результатами мікробіологічних випробувань зразок відповідав вимогам ДСанПіН 2.2.9.027-99. За результатами верифікації встановлено, що методики з визначення *P. aeruginosa* та бактерій родини *Enterobacteriaceae* вважалися придатними, а методики з визначення МАФМ, *S. aureus*, дріжджових та пліснявих грибів - непридатними (ріст тест-штамів мікроорганізмів у присутності зразка зубної пасти був відсутній, що свідчить про наявність антимікробної дії). Доведено, що пересів на щільні живильні середовища необхідно робити незалежно від наявності ознак росту в середовищі накопичення. Наявність антимікробної дії у зубних паст може призводити до отримання хибнонегативних результатів мікробіологічних випробувань.

Висновки. Проведені дослідження показали недосконалість методик для визначення мікробіологічних показників, наведених у міждержавному стандарті ГОСТ 7983-99 «Пасты зубные. Общие технические условия». Рекомендовано в подальшому проводити мікробіологічні випробування зразків зубних паст із застосуванням способу нейтралізації антимікробної дії, верифікованого для кожного найменування зразка, та обов'язкового пересіву з середовищ накопичення на щільні живильні середовища.

Ключові слова: зубні пасты, мікробіологічні показники, методи, верифікація методик.

MICROBIOLOGICAL METHODS FOR TOOTHPASTES QUALITY CONTROL IN UKRAINE

Z.A. Oliinyk, O.V. Surmasheva, Yu.V. Zheludenko

State Institution «O.M. Marzheiev Institute for Public Health NAMSU», Kyiv

Objective. Conduct microbiological testing of toothpaste samples with verification of techniques to confirm the ability to detect microorganisms in the presence of the toothpaste.

Materials and methods. Test samples of toothpaste with active carbon content were tested according to GOST 7983-99. A number of mediums, test microorganisms and principles of methodological verification were used in accordance with State Pharmacopoeia of Ukraine.

Results. The microorganisms' growth in the negative controls was not observed, in all positive controls a typical growth of used museum test strains was observed - study results were valid. Obtained results of samples microbiology testing satisfy the State Sanitary Rules and Regulations 2.2.9.027-99 requirements. According to the methods verification results it was found that the methods used to determine *P. aeruginosa* and *Enterobacteriaceae* were qualified while QMAFAnM, *S. aureus*, yeast and molds determination methods were considered unsuitable (the microorganisms test strains growth in the toothpaste sample presence was absent, indicating the antimicrobial activity). It has been proved that transfer to solid medium should be done regardless of the growth signs in the enrichment medium. The toothpastes antimicrobial activity may be lead to false-negative results of microbiology testing.

Conclusions. Studies have shown the microbiological parameters determining methods imperfection in the interstate standard GOST 7983-99 «Toothpastes. General technical specifications». It is recommended to further perform toothpaste samples microbiology testing using the antimicrobial action neutralization method verified for each sample and invariably reseeded from enrichment medium to solid medium.

Keywords: toothpaste, microbial attributes, methods, method verification.

Якість зубних паст, як і іншої парфумерно-косметичної продукції, що підлягає продажу на території України, регламентується вимогами ДСанПіН 2.2.9.027-99 [1], згідно якого зубні пасты повинні відповідати наступним вимогам за мікробіологічними показниками: кількість мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФAM) - менше 100 КУО/г; кількість дріжджів та пліснявих грибів – відсутність в 1 г; вміст бактерій родини *Enterobacteriaceae* - відсутність в 1 г; вміст *Staphylococcus aureus* - відсутність в 1 г; вміст *Pseudomonas aeruginosa* - відсутність в 1 г .

В якості методичного документа в даному ДСанПіНі зазначена «Государственная фармакопея СССР, в.2, Т.2, 1990. Методы микробиологического контроля лекарственных средств» [2], яка втратила легітимність. На території України діє Державна Фармакопея України (далі – ДФУ) [3].

В ДФУ, в статті 2.6.12 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: визначення числа мікроорганізмів» описані мікробіологічні методи з визначення наступних показників: «загальне число аеробних мікроорганізмів», «загальне число дріжджових та плісневих грибів», а у ст. 2.6.13 «Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів: випробування на окремі види мікроорганізмів» наведено методи виявлення *P. aeruginosa*,

S. aureus тощо. Метод виявлення бактерій родини Enterobacteriaceae в чинній редакції ДФУ відсутній.

У вступі до ст. 2.6.12 зазначено, що дані випробування дозволяють здійснювати кількісне визначення мезофільних бактерій та грибів, здатних зростати за аеробних умов. Про придатність наведених методів для визначення саме факультативно-анаеробних мікроорганізмів не повідомлено, однак використання глибинного методу висівання на чашки Петрі, який також використовується згідно ДСТУ 8446:2015 [4], дозволяє стверджувати, що даний метод, наведений в ДФУ, придатний для визначення МАФАМ у зразках косметичної продукції.

Методи, наведені в ДФУ для визначення «загального числа дріжджових та плісневих грибів» передбачають кількісний облік результатів, а вимогою для зубних паст є відсутність грибів в 1 г, тобто в даному випадку потребується якісне визначення. Таким чином, метод ДФУ є непридатним для визначення даного показника у зразках зубних паст.

Ще одним методичним документом в Україні, який описує визначення грибів, є ДСТУ ISO 16212:2018 (ISO 16212:2017, IDT) «Косметика. Мікробіологія. Підрахунок кількості дріжджів та плісняви» [5], але на сьогоднішній день його закупівля навіть мовою оригіналу (англійською) утруднена. Виходячи з назви, в даному документі також передбачено тільки кількісне визначення мікроорганізмів.

Для визначення бактерій родини Enterobacteriaceae можна було б використовувати ДСТУ 3034-95 «Шампуні та піномийні засоби. Мікробне забруднення. Метод виявлення бактерій *Escherichia coli*» [6], в якому частково описано метод виявлення бактерій родини Enterobacteriaceae, а саме – зазначено, в якому випадку роблять висновок про їх відсутність, але нічого не написано про дії у випадку, коли є підозра на їх наявність [7].

Виходячи з усього вищенаведеного, було прийнято рішення проводити випробування згідно міждержавного стандарту ГОСТ 7983-99 «Пасты зубные. Общие технические условия» [8], оскільки він містить всі необхідні методики. У вступі до основного тексту даного ГОСТу зазначено, що його прийнято «Межгосударственным Советом по стандартизации, метрологии и сертификации», в т.ч. Держстандартом України.

Оскільки лабораторія працює згідно принципів ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019 «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій» [9], який вимагає здійснювати верифікацію, тобто перевірку придатності стандартизованих методик, що застосовуються в лабораторії, паралельно з випробуванням зразків було проведено відповідні дослідження з використанням музейних тест-штамів мікроорганізмів.

Метою роботи було провести мікробіологічні випробування зразків зубної пасти та здійснити оцінку отриманих результатів на відповідність вимогам ДСаНПІН 2.2.9.027-99, а також провести верифікацію використаних методик для підтвердження здатності забезпечувати виявлення мікроорганізмів у присутності зразка.

Об'єкт та методи дослідження. Випробування зразків зубної пасти із вмістом активованого вугілля проводили згідно ГОСТ 7983-99 з використанням деяких живильних середовищ згідно ДФУ.

Пробопідготовка зразка: до наважки середньої проби зразка зубної пасти в стерильному градуйованому флаконі додали стерилізований автоклавуванням буферний розчин з рН 7,0 (далі – ФБ) (виробник «Фармактив») у співвідношенні 1:1; струшували отриману суспензію на приладі типу «Вортекс» впродовж 5 хвилин. Потім з даного розведення приготували розведення 1:10, а з розведення 1:10 – приготували 1:100.

Кожне випробування супроводжувалось негативним контролем, в якому у відповідні живильні середовища замість розведення зразка вносили ФБ. Результати випробувань зраховувались виключно у випадку відсутності ознак росту мікроорганізмів в негативних контролях.

Для перевірки придатності методик використовували наступні музейні тест-штами мікроорганізмів згідно ДФУ: *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (далі - *B. subtilis*) – «сінна паличка»; *Escherichia coli* ATCC 8739 (далі - *E. coli*) – «кишкова паличка», типовий представник бактерій родини Enterobacteriaceae; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (далі - *P. aeruginosa*) – синьо-

гнійна паличка; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (далі – *S. aureus*) – золотистий стафілокок; *Candida albicans* ATCC 10231 (далі - *C. albicans*) – типовий представник дріжджеподібних грибів; *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 (далі - *A. brasiliensis*) – «чорна пліснява», типовий представник пліснявих грибів. Підготовку тест-штамів проводили згідно ДФУ: використовували 5-й пасаж мікроорганізмів, вихідну культуру бактерій культивували на соєво-казеїновому бульйоні за температури $(30\pm 35)^\circ\text{C}$ протягом 24 год, *C. albicans* - на сабуродекстрозному бульйоні за температури $(20\pm 25)^\circ\text{C}$ протягом 72 год, *A. brasiliensis* – на сабуродекстрозному агарі за температури $(20\pm 25)^\circ\text{C}$ протягом 7 діб. Для отримання суспензії спор *A. brasiliensis* до посіву на скошеному Сабуро агарі додавали 2 см^3 ФБ та обережно знімали з його поверхні спори за допомогою бактеріологічної петлі. З вихідних культур шляхом послідовних розведень готували робочі інокуляти із використанням ФБ: *E.coli*, *P.aeruginosa*, *S. aureus* до 10^{-7} ; *C. albicans*, *B. subtilis*, *A. brasiliensis* – до 10^{-5} . Для контролю кількості внесених мікроорганізмів висівали отримані робочі інокуляти по 1 см^3 в двох повторях глибинним методом у відповідне щільне поживне середовище - поживний агар (виробник «HiMedia») або Сабуро агар (виробник «Фармактив»); після інкубації підраховували кількість колоній на чашках та розраховували середнє арифметичне.

Для визначення МАФАМ здійснювали посів зразка в розведенні 1:10 та 1:100 по 1 см^3 в 2-х паралелях глибинним методом в неселективне живильне середовище поживний агар (виробник «HiMedia»). Для перевірки придатності методики в пробірку з 10 см^3 зразка у розведенні 1:10 та 1:100, а також з ФБ (позитивний контроль) додавали по $0,1\text{ см}^3$ тест-штаму *B. subtilis* (один з трьох тест-штамів бактерій, який використовується для перевірки придатності методики з визначення загального числа аеробних мікроорганізмів згідно вимог ДФУ) в розведенні 10^{-3} від вихідної робочої культури, вміст кожної пробірки перемішали із використанням змішувача типу «Вортекс» та одразу здійснили висів способом, повністю аналогічним посіву зразка. Посіви інкубували 72 год за температури $(30\pm 1)^\circ\text{C}$.

Для виявлення бактерій родини Enterobacteriaceae вносили 10 см^3 зразка в розведенні 1:10 до ємності із 100 см^3 живильного середовища збагачення №3 (виробництво «Фармактив»). Для перевірки придатності методики в ємність з 100 см^3 цього ж живильного середовища додавали 10 см^3 зразка в розведенні 1:10 та 1 см^3 робочого інокулята *E.coli* в розведенні 10^{-7} ; для позитивного контролю до ємності зі 100 см^3 живильного середовища додали 10 см^3 ФБ та 1 см^3 робочого інокулята *E.coli* в розведенні 10^{-7} . Посіви інкубували 24 год (із внесеною культурою *E.coli*) або 48 год (без культури *E.coli*) за температури $(37\pm 1)^\circ\text{C}$, потім з тих ємностей, де спостерігалися ознаки росту (помутніння середовища та зміна його кольору з червоного на жовтий, що свідчило про ферментацію глюкози – ознака, притаманна бактеріям родини Enterobacteriaceae), а також додатково з ємностей, де таких ознак не було, здійснили висів на чашки Петрі із живильним середовищем Ендо (виробник «Фармактив») та інкубували 24 год за температури $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. За відсутності росту на чашках Петрі вважали, що в зразку відсутні представники родини Enterobacteriaceae.

Для виявлення *P. aeruginosa* вносили 10 см^3 зразка в розведенні 1:10 до ємності із 100 см^3 живильного середовища збагачення соєво-казеїновий бульйон (згідно ГОСТ 7983-99 потрібно використовувати середовище збагачення №8, його було замінено на аналогічне живильне середовище згідно ДФУ). Для перевірки придатності методики в ємність з 100 см^3 цього ж живильного середовища додавали 10 см^3 зразка в розведенні 1:10 та 1 см^3 робочого інокулята *P. aeruginosa* в розведенні 10^{-7} ; для позитивного контролю до ємності із 100 см^3 живильного середовища додали 10 см^3 ФБ та 1 см^3 робочого інокулята *P. aeruginosa*. Посіви інкубували за температури $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ 48 год з попереднім обліком через 24 год; через 24 год та через 48 год з всіх ємностей здійснювали висів на чашки Петрі з живильним середовищем цетримідний агар (виробник «HiMedia») та інкубували 48 год за температури $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ (згідно ГОСТ 7983-99 потрібно використовувати середовище №9, його було замінено на аналогічне і більш селективне живильне середовище згідно ДФУ).

Для виявлення *S. aureus* на першому етапі (накопичення) використовували той же посів, що й для виявлення *P. aeruginosa*. Для перевірки придатності методики в пробірку з

100 см³ живильного середовища накопичення додавали 10 см³ зразка в розведенні 1:10 та 1 см³ робочого інокулята *S. aureus* в розведенні 10⁻⁷; для позитивного контролю до ємності з 100 см³ живильного середовища додавали 10 см³ ФБ та 1 см³ робочого інокулята *S. aureus*. Посіви інкубували за температури (37±1)°С 48 год із попереднім обліком через 24 год. Через 24 год та 48 год з усіх ємностей здійснили висів на чашки Петрі із живильним середовищем №10 (манітно-сольовий агар, виробник «Фармактив») та інкубували 48 год за температури (37±1)°С.

Для виявлення дріжджових та пліснявих грибів вносили 10 см³ зразка в розведенні 1:10 до ємності з 100 см³ живильного середовища накопичення бульйон Сабуро. Для перевірки придатності методики в ємність з 100 см³ живильного середовища накопичення додавали 10 см³ зразка в розведенні 1:10 та 1 см³ робочого інокулята *C. albicans* в розведенні 10⁻⁵; для позитивного контролю до ємності з 100 см³ живильного середовища додавали 10 см³ ФБ та 1 см³ робочого інокулята *C. albicans*. В інші ємності зі зразком та без зразка аналогічним чином додавали робочий інокулят *A. brasiliensis* в розведенні 10⁻⁵. Посіви інкубували за температури (30±1)°С 5 діб із попереднім обліком через 4 доби щодо наявності типового росту грибів у вигляді помутніння середовища, осаду, плівки, комків, ниток; потім з ємностей без тест-штамів зробили препарати для мікроскопії, а з ємностей з тест-штамами – висів на поверхню агару Сабуро, який інкубували за температури (30±1)°С 48 год. За наявності у препаратах для мікроскопії грибів також передбачалося зробити висів на агар Сабуро.

За наявності росту мікроорганізмів на щільних живильних середовищах в посівах із зразком без тест-штамів передбачалося провести мікроскопію мазків за Грамом та відповідні тести ідентифікації.

Придатність методик оцінювали згідно вимог ДФУ наступним чином: методику для визначення МАФAM вважали придатною за умови, якщо середнє арифметичне значення числа колоній тест-штама, отримане у присутності зразка зубної пасти та за відсутності (в позитивному контролі) відрізнятиметься не більше ніж в 2 рази. Методики для виявлення бактерій родини Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, дріжджових та пліснявих грибів вважали придатними, якщо за умов інкубації суміші зразка та тест-штамів в живильних середовищах протягом мінімального терміну згідно методики (тобто, 24 год для бактерій та 5 діб для грибів в середовищах накопичення) після висіву на відповідні щільні живильні середовища на чашках Петрі спостерігався типовий ріст музейних тест-штамів мікроорганізмів.

Результати дослідження та їх обговорення. При обліку результатів випробувань в жодному з негативних контролів ріст мікроорганізмів не спостерігався, і в усіх позитивних контролях спостерігався типовий ріст використаних музейних тест-штамів, таким чином результати дослідження були дійсними.

Результати мікробіологічних випробувань зразків зубної пасти та перевірки придатності методики представлені у таблиці 1.

Було отримано наступні результати мікробіологічних випробувань зразків зубної пасти:

- на чашках Петрі з поживним агаром та зразком в розведеннях 1:10 та 1:100 росту мікроорганізмів не спостерігалось, таким чином МАФAM становило менше 10 КУО/г;
- в живильному середовищі №3 спостерігався осад, викликаний зразком, та слабе помутніння, однак ознаки росту бактерій родини Enterobacteriaceae (зміна кольору на жовтий) були відсутні, на агарі Ендо ріст мікроорганізмів був відсутній;
- в живильному середовищі для накопичення *P. aeruginosa* та *S. aureus* також спостерігався осад, утворений зразком, та слабе помутніння, при висіванні на відповідні щільні живильні середовища росту мікроорганізмів не було;
- в живильному середовищі для накопичення грибів теж спостерігався осад, утворений зразком, та слабе помутніння, при мікроскопії ознак росту жодних мікроорганізмів не було.

Таким чином, бактерії родини Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, плісняві та дріжджеві гриби в 1 г зразка не було виявлено. Зразок відповідав вимогам ДСанПІН 2.2.9.027-99.

Таблиця 1. Первинні результати мікробіологічних випробувань зразків зубної пасти та перевірки придатності методики.

	Показник, посівна доза зразка (розведення)					
	МАФAM, КУО/г		Кількість дріжджів та пліснявих грибів в 1 г	Бактерії родини Enterobacteria- seae в 1 г	S. aureus в 1 г	P. aeruginosa в 1 г
	1:10 (0,1 г)	1:100 (0,01 г)				
Зразок	0/0	0/0	відсутність росту	відсутність росту	відсутність росту	відсутність росту
Зразок + тест- штам	0/0	0/0	C. albicans – відсутність росту A. brasiliensis - відсу- тність росту	E. coli – типовий ріст	S. aureus - відсутність росту	P. aeruginosa - типовий ріст
Тест- штам	B. subtilis - 52 КУО/42 КУО		C. albicans – типовий ріст A. brasiliensis - типовий ріст	E. coli – типовий ріст	S. aureus - типовий ріст	P. aeruginosa - типовий ріст

Більш цікаві та неочікувані результати було отримано при перевірці придатності методик.

Кількість внесеної до живильних середовищ накопичення культури становила не більше 100 КУО, що відповідало вимогам ДФУ: E. coli - 37 КУО, P. aeruginosa - 30 КУО, S. aureus – 16 КУО, C. albicans – 10 КУО, A. brasiliensis – 9 КУО.

У випробуванні з визначення придатності МАФAM, кількість B. subtilis без зразка становила 47 КУО, а із зразком в розведенні 1:10 та 1:100 – росту мікроорганізмів не було взагалі, тобто застосована методика згідно вимог ДФУ вважалася непридатною для даного зразка.

В живильному середовищі накопичення зі зразком та внесеною культурою E.coli спостерігався не тільки осад та слабе помутніння, викликані зразком, а також зміна кольору середовища в тій же інтенсивності, що й в позитивному контролі, а при висіві на агар Ендо спостерігався ріст типових колоній – темно-червоних з металевим блиском. Таким чином, застосована методика з визначення бактерій родини Enterobacteriaceae вважалася придатною для даного зразка.

В живильному середовищі накопичення з внесеною культурою P. aeruginosa та зразком через 24 год візуально ознак росту не спостерігалось (крім осаду, утвореного зразком), а в живильному середовищі з позитивним контролем спостерігалися ознаки росту у вигляді плівки. Однак, при висіві на щільне живильне середовище з обох ємностей спостерігався типовий ріст P. aeruginosa (блискучі колонії, які забарвлюють середовище навколо в жовто-зелений колір) однакової інтенсивності. Через 48 год інкубації характерна плівка з'явилася і в ємності зі зразком. Таким чином, застосована методика визначення P. aeruginosa вважалася придатною для даного зразка, при цьому було з'ясовано, що пересів на щільне живильне середовище потрібно робити у будь-якому випадку, навіть за відсутності ознак росту в середовищі накопичення.

В живильному середовищі накопичення із внесеною культурою S. aureus та зразком через 24 год візуально ознак росту (окрім осаду, утвореного зразком) не спостерігалось, а в живильному середовищі з позитивним контролем спостерігалися ознаки росту у вигляді рівномірного помутніння. Через 48 год інкубації помутніння в ємності зі зразком не з'явилося. При висіві з контрольної ємності на щільне живильне середовище спостерігався типовий ріст

S. aureus (жовті колонії, навколо яких середовище змінило колір з червоного на жовте за рахунок ферментації (окиснення) маніту). При висіві з ємності зі зразком через 24 год та через 48 год росту мікроорганізмів не було. Таким чином, застосована методика з визначення *S. aureus* вважалася непридатною для даного зразка.

В живильних середовищах накопичення зі зразком та внесеними культурами *C. albicans* або *A. brasiliensis* через 5 діб інкубації візуально ознак росту (крім осаду, утвореного зразком) не спостерігалось. В живильному середовищі з позитивним контролем через 3 доби спостерігалися ознаки росту у вигляді пухкого білого осаду, а через 5 діб – на поверхні додатково утворилася біла пухнаста «шапка» *A. brasiliensis*, а в ємності з *C. albicans* – помутніння та білі нитевидні утворення. При висіві з контрольних ємностей через 4 доби інкубації на щільне живильне середовище спостерігався типовий ріст *A. brasiliensis* (білий ватоподібний) та *C. albicans* (білі опуклі непрозорі колонії). При мікроскопії мазків, зроблених з вмісту середовища накопичення зі зразком та забарвлених за Грамом, мікроорганізмів виявлено не було. Таким чином, застосована методика з визначення дріжджових та пліснявих грибів вважалася непридатною для даного зразка.

Загибель музейних тест-штамів під впливом зразка зубної пасту довела наявність у останнього антимікробної дії, яка може бути нейтралізована способами, наведеними в ДФУ, ст. 2.6.12, та у ряді стандартів ДСТУ ISO групи «Косметика» («Засоби косметичні») - ДСТУ ISO 21149:2010 «Перелік та виявлення мезофільних аеробних бактерій», ДСТУ ISO 16212:2018 «Підрахунок кількості дріжджів та плісняви», ДСТУ ISO 21150:2010 «Виявлення *Escherichia coli*», ДСТУ ISO 22717:2010 «Метод виявлення *Pseudomonas aeruginosa*», ДСТУ ISO 22718:2010 «Метод виявлення *Staphylococcus aureus*», ДСТУ ISO 18416:2017 «Метод виявлення *Candida albicans*» [5,10-14], а саме використанням нейтралізаторів, збільшенням розбавлення зразка та об'ємів середовища накопичення, застосування методу мембранної фільтрації. Наявність антимікробної дії у зразків в умовах випробування може не знищувати мікроорганізми, якими зразки можуть бути забруднені, але гальмувати їх розмноження при проведенні мікробіологічних випробувань, що приводить до отримання хибнонегативних результатів.

Стандарти ДСТУ ISO групи «Косметика» («Косметичні засоби») [5,10-14] можна використовувати для контролю якості зубних паст при використанні нормативів згідно ДСТУ EN ISO 17516:2016 [15] «Косметика. Мікробіологія. Мікробіологічні межі» або відповідного європейського документа. Згідно вимог ДСТУ EN ISO 17516:2016 в косметично-парфумерних засобах нормується кількість аеробних мезофільних мікроорганізмів (бактерій, дріжджів, пліснявих грибів), а також відсутність *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. Таким чином показники, визначення яких наведено в методичних документах ДСТУ ISO групи «Косметика» («Косметичні засоби») відповідають показникам з вищенаведеного нормативного документа. Вимоги європейської нормативної документації до безпосередньо зубних паст наступні: кількість аеробних мезофільних мікроорганізмів (бактерій, дріжджів, пліснявих грибів) не більше 100 КУО/г (см³), *C. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* – відсутність в 1 г (см³).

Висновки

Проведені дослідження показали недосконалість методик для визначення мікробіологічних показників, наведених у міждержавному стандарті ГОСТ 7983-99 «Пасты зубные. Общие технические условия». Методики, наведені в даному документі, можуть вважатися придатними за наступних умов:

- застосування різних способів зняття антимікробної дії: додавання нейтралізаторів, використання мембранної фільтрації тощо;
- визначення ефективності застосованого способу зняття антимікробної дії (проведення валідації методики);

- підбір відповідного способу нейтралізації антимікробної дії із проведенням валідації методики має бути обов'язковим для кожного найменування зубних паст, якість яких контролюється, з метою запобігання отриманню хибнонегативних результатів;

- при виявленні мікроорганізмів висів на щільні живильні середовища з середовищ накопичення необхідно здійснювати у будь-якому випадку, навіть за відсутності візуально видимих ознак росту.

Всі вищезазначені методологічні особливості враховані в ДСТУ ISO 21149:2010, ДСТУ ISO 21150:2010, ДСТУ ISO 22717:2010, ДСТУ ISO 22718:2010 тощо – методичних документах, які є ідентичними перекладами міжнародних стандартів або видані мовою оригіналу. Однак, ці ДСТУ ISO поки не можуть повноцінно використовуватись в Україні у зв'язку з тим, що вимоги чинного в Україні ДСанПіН 2.2.9.027-99 «Державні санітарні правила і норми безпеки продукції парфумерно-косметичної промисловості» за мікробіологічними показниками не відповідають сучасним європейським вимогам. Згідно європейської нормативної документації в парфумерно-косметичній продукції контролюються наступні мікробіологічні показники: аеробні мезофільні мікроорганізми (бактерії, дріжджі та пліснява), *S. albicans*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*. У випадку відміни або оновлення ДСанПіН 2.2.9.027-99 контроль якості зубних паст можна буде повністю здійснювати згідно відповідних методичних ДСТУ ISO.

ЛІТЕРАТУРА

1. ДСанПіН 2.2.9.027-99 «Державні санітарні правила і норми безпеки продукції парфумерно-косметичної промисловості».
2. Государственная фармакопея СССР, в.2, Т.2, 1990. Москва. С. 87-200. Методы микробиологического контроля лекарственных средств.
3. Державна Фармакопея України, 2 видання, Харків, 2015 р.
4. ДСТУ 8446:2015 Продукти харчові. Методи визначення кількості мезофільних аеробних та факультативно-анаеробних мікроорганізмів.
5. ДСТУ ISO 16212:2018 (ISO 16212:2017, IDT) «Косметика. Мікробіологія. Підрахунок кількості дріжджів та плісняви».
6. ДСТУ 3034-95 «Шампуні та піномийні засоби. Мікробне забруднення. Метод виявлення бактерій *Escherichia coli*».
7. Сурмашева О.В., Олійник З.А., Романенко Л.І., Міхійенкова А.І., Ніконова Н.О. Актуальні проблеми мікробіологічного контролю якості парфумерно-косметичної продукції, гігієнічно-профілактичних засобів та предметів особистої гігієни. Гігієна населених місць. 2017. №67. С. 93-98. DOI : <https://doi.org/10.32402/hygiene2017.67.093>.
8. ГОСТ 7983-99 Пасты зубные. Общие технические условия.
9. ДСТУ EN ISO/IEC 17025:2019 Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій (EN ISO/IEC 17025:2017, IDT; ISO/IEC 17025:2017, IDT).
10. ДСТУ ISO 21149:2010 (ISO 21149:2006, IDT) Засоби косметичні. Мікробіологія. Перелік та виявлення мезофільних аеробних бактерій.
11. ДСТУ ISO 21150:2010 (ISO 21150:2006, IDT) Засоби косметичні. Мікробіологія. Виявлення *Escherichia coli*.
12. ДСТУ ISO 22717:2010 (ISO 22717:2006, IDT) Засоби косметичні. Мікробіологія. Метод виявлення *Pseudomonas aeruginosa*.
13. ДСТУ ISO 22718:2010 (ISO 22718:2006, IDT) Засоби косметичні. Мікробіологія. Метод виявлення *Staphylococcus aureus*.
14. ДСТУ ISO 18416:2017 (ISO 18416:2015, IDT) Засоби косметичні. Мікробіологія. Метод виявлення. *Candida albicans*.
15. ДСТУ EN ISO 17516:2016 (EN ISO 17516:2014, IDT) Косметика. Мікробіологія. Микробиологические пределы.

REFERENCES

1. DSaNPiN 2.2.9.027-99 «Derzhavni sanitarni pravyla i normy bezpeky produktsii parfumerno-kosmetychnoi promyslovosti» [SSRSS 2.2.9.027-99 «State Sanitary Rules and Safety Standards for Products of the Perfume and Cosmetics Industry»] (in Ukrainian).
2. Gosudarstvennaya farmakopeya SSSR. Vypusk 2. Metody mikrobiologicheskogo kontrolya lekarstvennykh sredstv [State Pharmacopoeia of the USSR. Issue 2. Methods for Microbiological Control of Medicines]. Moscow. 1990 ; 2 : 87-200 (in Russian).
3. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy, 2 vydannia [State Pharmacopoeia of Ukraine, 2nd Edition]. Kharkiv. 2015 (in Ukrainian).
4. DSTU 8446:2015 Produkty kharchovi. Metody vyznachennia kilkosti mezofilnykh aerobnykh ta fakultativno-anaerobnykh mikroorhanizmiv [SSTU 8446:2015 Food Products. Methods for Determining the Number of Mesophilic Aerobic and Facultative Anaerobic Microorganisms] (in Ukrainian).
5. DSTU ISO 16212:2018 (ISO 16212:2017, IDT) «Kosmetyka. Mikrobiolohiia. Pidrakhunok kilkosti drizhdzhiv ta plisniavy» [SSTU ISO 16212:2018 (ISO 16212:2017, IDT) «Cosmetics. Microbiology. Counting the Amount of Yeast and Mold»] (in Ukrainian).
6. DSTU 3034-95 «Shampuni ta pinomyini zasoby. Mikrobne zabrudnennia. Metod vyiavlennia bakterii Escherichia coli» [DSTU 3034-95 «Shampoos and Foaming Agents. Microbial Contamination. Method for Detecting Escherichia Coli Bacteria»] (in Ukrainian).
7. Surmasheva O.V., Oliinyk Z.A., Romanenko L.I., Mikhiienkova A.I., Nikonova N.O. Aktualni problemy mikrobiolohichnoho kontroliu yakosti parfumerno-kosmetychnoi produktsii, hihiienichno-profilaktychnykh zasobiv ta predmetiv osobystoi hihiieny [Actual Problems of Microbiological Quality Control of Perfumery and Cosmetics, Hygienic and Preventive Means and Personal Hygiene ITEMS]. In : Hihiiena naselenykh mist [Hygiene of Populated Places]. 2017 ; 67 : 93-98. DOI : <https://doi.org/10.32402/hygiene2017.67.093> (in Ukrainian).
8. GOST 7983-99 Pasty zubnye. Obshchie tekhnicheskije usloviya [GOST 7983-99 Toothpastes. General Technical Conditions] (in Russian).
9. DSTU EN ISO/IEC 17025:2019 Zahalni vymohy do kompetentnosti vyprobuvalnykh ta kalibrivalnykh laboratorii (EN ISO/IEC 17025:2017, IDT; ISO/IEC 17025:2017, IDT) [SSTU EN ISO/IEC 17025:2019 General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories (EN ISO/IEC 17025:2017, IDT; ISO/IEC 17025:2017, IDT)] (in Ukrainian).
10. DSTU ISO 21149:2010 (ISO 21149:2006, IDT) Zasoby kosmetychni. Mikrobiolohiia. Perelik ta vyiavliannia mezofilnykh aerobnykh bakterii [SSTU ISO 21149:2010 (ISO 21149:2006, IDT) Cosmetics. Microbiology. List and Detection of Mesophilic Aerobic Bacteria] (in Ukrainian).
11. DSTU ISO 21150:2010 (ISO 21150:2006, IDT) Zasoby kosmetychni. Mikrobiolohiia. Vyiavlennia Escherichia coli [SSTU ISO 21150:2010 (ISO 21150:2006, IDT) Cosmetics. Microbiology. Detection of Escherichia Coli] (in Ukrainian).
12. DSTU ISO 22717:2010 (ISO 22717:2006, IDT) Zasoby kosmetychni. Mikrobiolohiia. Metod vyiavliannia Pseudomonas aeruginosa [SSTU ISO 22717:2010 (ISO 22717:2006, IDT) Cosmetics. Microbiology. Method of Detecting Pseudomonas Aeruginosa] (in Ukrainian).
13. DSTU ISO 22718:2010 (ISO 22718:2006, IDT) Zasoby kosmetychni. Mikrobiolohiia. Metod vyiavliannia Staphylococcus aureus [SSTU ISO 22718:2010 (ISO 22718:2006, IDT) Cosmetics. Microbiology. Method of Detecting Staphylococcus Aureus] (in Ukrainian).
14. DSTU ISO 18416:2017 (ISO 18416:2015, IDT) Zasoby kosmetychni. Mikrobiolohiia. Metod vyiavliannia. Candida albicans [SSTU ISO 18416:2017 (ISO 18416:2015, IDT) Cosmetics. Microbiology. Detection Method. Candida Albicans] (in Ukrainian).
15. DSTU EN ISO 17516:2016 (EN ISO 17516:2014, IDT) Kosmetika. Mikrobiologicheskie predely [SSTU EN ISO 17516:2016 (EN ISO 17516:2014, IDT) Cosmetics. Microbiology. Microbiological Limits] (in Russian).