



О.В. Гунар ✉ 
Г.М. Булгакова 

Совершенствование микробиологических методик анализа качества нестерильных лекарственных средств, обладающих антимикробным действием

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

✉ Гунар Ольга Викторовна; gunar@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Первым этапом микробиологического анализа лекарственного средства (ЛС) является оценка его антимикробного действия, то есть влияния ЛС на рост аэробных бактерий, дрожжевых и плесневых грибов. Совершенствование методических инструментов для проведения микробиологического анализа с целью повышения качества получаемых данных остается актуальной задачей.

ЦЕЛЬ. Разработка методического подхода к определению микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств, обладающих антимикробным действием, повышение точности и надежности существующих методик микробиологического анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Для исследования использовали нестерильные ЛС 12 наименований, 5 разбавителей (фосфатный буферный раствор, фосфатный буферный раствор с добавкой полисорбата-80 (1 или 5%), нейтрализующая жидкость, триптиказо-соевый бульон), питательные среды и тест-микроорганизмы, регламентированные Государственной фармакопеей Российской Федерации и Фармакопеей Евразийского экономического союза для проведения микробиологического анализа качества.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Определены условия проведения микробиологического исследования нестерильных ЛС с выявленным антимикробным действием, разработанные методики апробированы на ЛС 10 наименований. Доказана применимость методик количественного определения микроскопических грибов в образцах с фунгистатическим действием. Коэффициенты прорастания *Candida albicans* и *Aspergillus brasiliensis* находились в допустимом диапазоне 76–128%. Предложено внесение изменений в методику качественного определения *Escherichia coli*: разведение образца 1:50 в количестве 50 мл (соответствующее 1 г ЛС), которое вносили в 450 мл соответствующей питательной среды. Сравнение разбавителей, содержащих в составе неспецифические инактиваторы антимикробного действия, показало, что предпочтительным является использование нейтрализующей жидкости.

ВЫВОДЫ. Предложен методический подход к определению микробиологической чистоты ЛС, основанный на том, что результаты анализа следует считать достоверными только с учетом антимикробного действия испытуемого образца. Доказана целесообразность увеличения количества образца до 10 мл из разведения, в котором антимикробное действие отсутствует (например, 1:100). Для посева рекомендовано использовать чашки Петри диаметром 150 мм, 50 мл агаризованной питательной среды, а также разбавители, содержащие в составе до 5% полисорбата-80. Показана применимость разведения, при котором антимикробное действие отсутствует; необходимость увеличения количества образца пропорционально вносимому в питательную среду до регламентированного фармакопеей количества — не меньше 1 г (мл), а также рекомендовано использовать разбавители, содержащие в составе до 5% полисорбата-80, для инактивации бактериостатического и фунгистатического действия.

Ключевые слова: нестерильные лекарственные средства; качество лекарственных средств; микробиологическая чистота; антимикробное действие; контроль качества; методы микробиологического анализа

Для цитирования: Гунар О.В., Булгакова Г.М. Совершенствование микробиологических методик анализа качества нестерильных лекарственных средств, обладающих антимикробным действием. *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2024;14(3):362–369. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-362-369>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00026-24-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Olga V. Gunar  ,
Galina M. Bulgakova  

Improvement of Microbiological Methods for Testing the Quality of Non-sterile Medicines with Antimicrobial Effects

*Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation*

 **Olga V. Gunar;** gunar@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Microbiological testing of any medicine begins with the determination of its antimicrobial activity—that is, its effect on the growth of aerobic bacteria, yeasts, and moulds. Therefore, the improvement of microbiological testing methods to enhance the quality of resulting data remains a high priority.

AIM. The study aimed to develop a methodological approach to testing non-sterile medicines with antimicrobial effects for microbiological quality, as well as to improve the accuracy and reliability of existing microbiological testing methods.

MATERIALS AND METHODS. The study used 12 non-sterile pharmaceuticals, 5 diluents (phosphate buffer solution, phosphate buffer solution with polysorbate 80 (1% and 5%), neutralising fluid, and trypticase soy broth), culture media, and test strains required for microbiological quality testing according to the State Pharmacopoeia of the Russian Federation and the Pharmacopoeia of the Eurasian Economic Union.

RESULTS. This study established microbiological testing conditions for non-sterile medicines with known antimicrobial effects. The analytical procedures developed in the study were tested on 10 medicines. The authors demonstrated the applicability of analytical procedures for the quantitative determination of microscopic fungi in samples with fungistatic activity. The proliferation factors in growth promotion tests with *Candida albicans* and *Aspergillus brasiliensis* were within the acceptable range of 76–128% of the calculated value for a standardised inoculum. The authors proposed a modification to the analytical procedure for the qualitative determination of *Escherichia coli*; the modification involved using a 50 mL sample at a 1:50 dilution, corresponding to 1 g of the test product, for transfer to 450 mL of an appropriate culture medium. Having compared diluents containing non-specific agents neutralising antimicrobial activity, the authors showed that the neutralising fluid should be preferred.

CONCLUSIONS. The authors proposed a methodological approach to microbiological quality testing of medicines, postulating that the results should be considered reliable only if they account for the antimicrobial activity of the test product. The study demonstrated the feasibility of increasing the sample volume up to 10 mL and using a dilution exhibiting no antimicrobial activity (e.g., 1:100). The authors recommended using 150 mm Petri dishes, 50 mL of an agarised culture medium, and diluents with up to 5% of polysorbate 80 for plating. The study demonstrated the suitability of using a dilution exhibiting no antimicrobial activity. The study results indicated the need to increase the sample volume to be proportionally transferred to a culture medium; the sample should contain the amount of the test product regulated by pharmacopoeias (i.e., not less than 1 g (1 mL)). Diluents with up to 5% of polysorbate 80 were recommended for neutralising bacteriostatic and fungistatic effects.

Keywords: non-sterile medicines; quality; microbiological quality; antimicrobial effect, quality control; microbiological testing procedures

For citation: Gunar O.V., Bulgakova G.M. Improvement of microbiological methods for testing the quality of non-sterile medicines with antimicrobial effects. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2024;14(3):362–369. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-362-369>

Funding. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00026-24-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D reporting No. 124022300127-0).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Инциденты, связанные с контаминацией лекарственных средств (ЛС) микроорганизмами, были зафиксированы еще в 60-х годах XX века и, к сожалению, продолжают до наших дней¹, что требует от производителей фармацевтической продукции, экспертов и представителей контрольных органов особого внимания к микробиологическому качеству ЛС. В 2024 г. в Федеральный закон Российской Федерации «Об обращении лекарственных средств» были внесены изменения, согласно которым была обозначена необходимость определения микробиологических характеристик лекарственных средств, в том числе фармацевтических субстанций².

Методики оценки микробиологических показателей качества ЛС (стерильность и микробиологическая чистота) утверждены в Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) и Фармакопее Евразийского экономического союза (ФЕАЭС)³, микробиологические методики для анализа конкретных лекарственных препаратов (ЛП) в случае необходимости описываются в нормативной документации и, как правило, обосновываются валидационными (верификационными) исследованиями, представленными в регистрационных досье на ЛП. В соответствии с положениями фармакопей⁴ первым этапом испытания ЛС, в том числе высокотехнологичных лекарственных препаратов, по показателям «Стерильность» или «Микробиологическая чистота» является оценка влияния непосредственно ЛП на рост минимального количества определенных микроорганизмов с целью доказательства применимости методики анализа. Выявленное влияние определяется как антимикробное действие ЛС, которое может быть одной из основных

возможных причин получения ложноотрицательных результатов анализа качества ЛС [1] и отражает особенности используемых субстанций, вспомогательных веществ, а также технологический процесс производства [2].

Ранее вопросы, связанные с изучением антибактериального и противогрибкового действия ЛС и с различными способами его нейтрализации, уже обсуждались [3, 4], однако в связи с развитием фармацевтической микробиологии необходимы пересмотр и модификация методик анализа с целью повышения точности и достоверности результатов анализа.

Цель работы – разработка методического подхода к определению микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств, обладающих антимикробным действием, повышение точности и надежности существующих методик микробиологического анализа.

Задачи исследования:

- определение антимикробного действия некоторых ЛС;
- определение подходов к совершенствованию испытания в отношении содержания аэробных микроорганизмов и дрожжевых и плесневых грибов и модификация условий методик определения микробиологического качества;
- модификация методики выделения *Escherichia coli* из ЛС, обладающих антибактериальным действием в отношении указанного микроорганизма;
- оценка применимости различных разбавителей ЛС в качестве неспецифических инaktivаторов для нейтрализации антимикробного действия.

¹ Чисто неслучайно: проблема контаминации при производстве лекарств. GxP News, 05.02.2024. <https://gxpnews.net/2024/02/chisto-ne-sluchajno-problema-kontaminaczii-pri-proizvodstve-lekarstv/>

² Федеральный закон Российской Федерации от 30.01.2024 № 1-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон “Об обращении лекарственных средств” и статьи 1 и 4 Федерального закона “О внесении изменений в Федеральный закон “Об обращении лекарственных средств” и Федеральный закон “О внесении изменений в Федеральный закон “Об обращении лекарственных средств”»».

³ ОФС.1.2.4.0002.18. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

Фармакопея ЕАЭС 2.1.6.6. Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество аэробных микроорганизмов. М.; 2020.

⁴ Там же.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Лекарственные средства. В работе использовали ЛС 12 международных непатентованных наименований: безопрокт, мазь для ректального и наружного применения; протаргол (серебра протеинат), порошок для приготовления раствора для местного применения; вегадерм, мазь для наружного применения 0,5+1,0+10,0 мг/г (бетаметазон+гентамицин+клотримазол); уксусная кислота, субстанция-раствор; формагель, гель для наружного применения 3,7%; амлодипин, таблетки 10 мг; хлоропирамин, таблетки 25 мг; дротаверина гидрохлорид, субстанция-порошок; альфа-липоевая кислота, субстанция-порошок; периндоприл+амлодипин 10 мг+10 мг, таблетки; эстриол, крем вагинальный 1 мг/г; итраконазол, капсулы 100 мг.

Тест-штаммы микроорганизмов. *Escherichia coli* ATCC 8739; *Bacillus subtilis* ATCC 6633; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; *Candida albicans* ATCC 10231; *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

В работе использовали микробиологические питательные среды, в том числе триптиказо-соевый агар (TSA); агар Сабуро (SDCA); триптиказо-соевый бульон (TSB); маннитно-солевой агар; цетримидный агар; агар Эндо-ГРМ для выявления энтеробактерий; разбавители: раствор натрия хлорида 0,9%⁵, фосфатный буферный раствор с натрия хлоридом и пептоном (рН 7,0) (ФБР)⁶ с полисорбатом-80 (1 или 5%), нейтрализующая жидкость⁷.

Используемое оборудование. Инкубаторы BD-240 и KB-115 (Binder); ламинарный шкаф (Labconco); счетчик колоний Scan 100 (Interscience); микроскоп стереоскопический Olympus BX41; весы лабораторные электронные Сартогосм CE 623-С (ООО «Сартогосм»).

Методы исследования. Экспериментальное исследование проводили по методикам определения антимикробного действия и микробиологической чистоты, указанным в ОФС.1.2.4.0002.18 «Микробиологическая чистота» ГФ РФ XIV изд., ОФС 2.1.6.6 «Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество аэробных микроорганизмов» Фармакопеи ЕАЭС.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рассмотрим случай, когда установленное противогрибковое действие нестерильных ЛС нейтрализуется дополнительным разведением образца в 100 раз, а применять такое разведение для посева 1 мл в стандартные чашки Петри диаметром 90 мм нецелесообразно, так как нормативные требования в отношении количества дрожжевых и плесневых грибов составляют не более 10 КОЕ/г (мл).

Для получения достоверного значения содержания дрожжевых и плесневых грибов использовали стерильные чашки Петри увеличенного размера (150 мм в диаметре), в каждую из которых вносили по 10 мл образца из разведения 1:100, что по количеству анализируемого вещества соответствовало стандартному объему 1 мл из разведения 1:10. Дополнительное разведение 1:100 нейтрализовало выявленное противогрибковое действие рассматриваемых ЛС, а внесение в каждую чашку Петри по 10 мл образца позволило получить достоверный результат, соответствующий в пересчете 1 г ЛС. Согласно методике испытания для роста возможных грибов-контаминантов использовали агар Сабуро в количестве 50 мл на каждую чашку Петри при посеве, а затем выполняли инкубацию в стандартных условиях.

На основании полученных значений количества дрожжеподобных и плесневых грибов рассчитывали коэффициенты прорастания микроорганизмов (K_{np}) по формуле (1) (табл. 1). Коэффициенты прорастания *Candida albicans* составляли 76–101%, *Aspergillus brasiliensis* – 82–128%, что является допустимым согласно ФЕАЭС⁸.

$$K_{np} = \frac{N}{N_0}, \quad (1)$$

где N и N_0 – средние арифметические числа колоний на чашках Петри с исследуемым и с контрольным образцом соответственно.

Рассмотренный в настоящем исследовании подход может быть реализован в тех случаях, когда антибактериальное действие ЛС сохраняется в разведении 1:1000 при допустимом пределе содержания аэробных микроорганизмов 1000 КОЕ/г. При отсутствии роста после внесения 10 мл из разведения 1:10000 на чашку

⁵ ОФС.1.2.4.0002.18. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

⁶ Там же.

⁷ Фармакопея ЕАЭС 2.1.6.6. Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество аэробных микроорганизмов. М.; 2020.

⁸ Там же.

Таблица 1. Результаты оценки фунгистатического действия лекарственных препаратов**Table 1.** Results of assessing the fungistatic activity of medicines

Наименование лекарственного средства <i>Medicine name</i>	Разведение <i>Dilution</i>	Количество выявленных микроорганизмов (КОЕ/г) <i>Number of micro-organisms detected (CFU/g)</i>					
		<i>Candida albicans</i>			<i>Aspergillus brasiliensis</i>		
		I	II	III	I	II	III
Безопрокт, мазь <i>Bezoproct, ointment</i>	1:10	–	–	99±4 K_{np} 101%	–	–	75±2 K_{np} 110%
	1:100	+	+		+	+	
Протаргол (серебра протеинат), порошок <i>Protargol (silver proteinate), powder</i>	1:10	–	–	89±6 K_{np} 91%	–	–	87±3 K_{np} 128%
	1:100	+	+		+	+	
Вегадерм, мазь <i>Vegaderm, ointment</i>	1:10	–	–	88±1 K_{np} 90%	–	–	63±2 K_{np} 93%
	1:100	+	+		+	+	
Уксусная кислота, субстанция-раствор <i>Acetic acid, active substance, solution</i>	1:10	–	–	76±4 K_{np} 76%	–	–	65±1 K_{np} 96%
	1:100	+	+		+	+	
Формагель, гель <i>Formagel, gel</i>	1:10	–	–	84±6 K_{np} 86%	–	–	56±6 K_{np} 82%
	1:100	+	+		+	+	
Контроль роста тест-микроорганизма <i>Test strain growth control</i>	не применимо <i>not applicable</i>	+	+	98±2	+	+	68±1

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. «–» – 0%, рост отсутствовал; «+» – 100%, рост, аналогичный росту тест-микроорганизмов по количеству и морфологии колоний; K_{np} – коэффициент прорастания микроорганизмов.

I – метод определения антимикробного действия в условиях определения микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств (ОФС.1.2.4.0002.18 Государственная фармакопея Российской Федерации, изд. XIV); II – метод репликаций; III – количественный метод, предложенный авторами статьи;

Note. –, no growth (0%); +, growth similar in the number and morphology of colonies to that of test strains (100%); K_{np} , proliferation factor from growth promotion tests.

I: method for determining antimicrobial activity in microbiological quality testing of non-sterile medicines (OFS.1.2.4.0002.18, State Pharmacopoeia of the Russian Federation, ed. XIV); II: method for determining the antimicrobial activity of water-insoluble medicines (method of replications); III: quantitative method proposed by the authors.

Петри диаметром 150 мм можно дать заключение следующего содержания: в 1 г испытуемого ЛС – менее 1000 КОЕ микроорганизмов, что соответствует требуемым нормативам.

В некоторых случаях при оценке показателя «Микробиологическая чистота», согласно нормативным требованиям⁹, необходимо установить отсутствие *E. coli* в образце ЛС. Этот микроорганизм, относящийся к семейству энтеробактерий, является санитарно-показательным, может служить критерием соблюдения правил надлежащей производственной практики при фармацевтическом производстве. *E. coli* необходимо выделять:

- из твердых (неводных) и жидких препаратов для приема внутрь (категория 3А);
- из ЛП природного происхождения, уровень микробной загрязненности которого

невозможно снизить в процессе предварительной обработки (категория 3Б);

- из готовых смесей для лечебных кормов, применяемых в ветеринарии, с использованием наполнителей природного происхождения, для которых противомикробная обработка невозможна (категория 3В);
- из фармацевтических субстанций и вспомогательных веществ синтетического и природного происхождения для производства нестерильных ЛП (категории 3.2 и 2.2).

Оценка микробиологического качества ЛС, обладающих антимикробным действием в отношении *E. coli*, затруднена. Для решения этой задачи нами был предложен подход, состоящий в нейтрализации антимикробного действия препарата путем увеличения объема анализируемого образца ЛС до 50 мл в разведении 1:50,

⁹ ОФС.1.2.4.0002.18. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. 2. М.; 2018.

Фармакопея ЕАЭС 2.1.6.6. Микробиологические испытания нестерильных лекарственных средств: общее количество аэробных микроорганизмов. М.; 2020

при котором нейтрализуется антимикробное действие. Увеличенный объем (50 мл) образца лекарственного препарата вносили в 450 мл питательной среды (триптиказо-соевого бульона). Результаты, полученные при апробации данной методики на примере пяти ЛС (амлодипин, таблетки; периндоприл+амлодипин, таблетки; хлоропирамин, таблетки; дротаверин, субстанция; липоевая кислота, субстанция), обобщены в *таблице 2* и демонстрируют целесообразность увеличения объема разведения образца (например, до 50 или 100 мл) и объема питательной среды (до 450 или 900 мл) пропорционально количеству образца, которое должно составлять не менее 1 г (мл). Условия методик определения микробиологического качества лекарственных средств, обладающих и не обладающих антимикробным действием, приведены в *таблице 3*.

Нами было проведено сравнение пяти различных разбавителей с целью оценки их применимости в качестве неспецифических инактиваторов для нейтрализации антимикробного действия. Так, для нейтрализации бактериостатического действия экстраиола, крем вагинальный, и фунгистатического действия итраконазола, капсулы 100 мг, были апробированы два разбавителя без инактиваторов (ФБР и TSB) и три разбавителя,

содержащие в составе неспецифические инактиваторы: полисорбат-80 (1 или 5%), яичный (или соевый) лецитин (0,3% в составе нейтрализующей жидкости), гистидина гидрохлорид (0,1% в составе нейтрализующей жидкости). Полученные результаты представлены в *таблице 4 «Результаты нейтрализации антимикробного действия лекарственных препаратов эстриол, крем вагинальный, и итраконазол, капсулы 100 мг, с использованием различных разбавителей»*, опубликованной на сайте журнала¹⁰.

Разведения от 1:10 до 1:50 препарата эстриол, крем вагинальный, в ФБР, ФБР с 1% полисорбатом-80 и TSB не могут быть применены для выявления грамположительных (*B. subtilis* и *S. aureus*) и грамотрицательных (*E. coli*) бактерий. K_{np} составляет 0–48%. При добавлении в разбавитель полисорбата-80 в количестве 5% или применении нейтрализующей жидкости, в состав которой согласно нормативным актам¹¹ входит 3% полисорбата-80, K_{np} возрастает до 88%. Применение разбавителя, содержащего 1 или 5% полисорбата-80, для нейтрализации противогрибкового действия итраконазола, капсул, положительно сказывается на K_{np} дрожжевых и плесневых грибов. Использование фосфатного буферного раствора и триптиказо-соевого бульона в качестве разбавителя не позволяет выявить *A. brasiliensis*.

Таблица 2. Нейтрализация бактериостатического действия лекарственного препарата в отношении *Escherichia coli* различными методами

Table 2. Neutralisation of the bacteriostatic activity of medicines against *Escherichia coli* by various methods

Наименование лекарственного средства <i>Medicine name</i>	Разведение <i>Dilution</i>	Методики нейтрализации <i>Neutralisation methods</i>		
		I	II	III
Амлодипин, таблетки Хлоропирамин, таблетки Дротаверин, субстанция Липоевая кислота, субстанция Периндоприл+амлодипин, таблетки <i>Amlodipine, tablets</i> <i>Chloropyramine, tablets</i> <i>Drotaverine, active substance</i> <i>Lipoic acid, active substance</i> <i>Perindopril+amlodipine, tablets</i>	1:10	–	–	50 мл из разведения 1:50 вносили в 450 мл соответствующей питательной среды <i>50 mL of a 1:50 dilution was transferred to 450 mL of an appropriate culture medium</i>
	1:50	+	+	

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Примечание. «–» – рост отсутствовал, «+» – рост, аналогичный росту тест-микроорганизма в жидкой питательной среде, I – метод определения антимикробного действия в условиях определения микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств (ОФС.1.2.4.0002.18 Государственная фармакопея Российской Федерации, изд. XIV); II – метод репликаций; III – качественный метод, предложенный авторами статьи.

Note. –, no growth; +, growth similar to that of the test strain in a liquid culture medium.

I: method for determining antimicrobial activity in microbiological quality testing of non-sterile medicines (OFS.1.2.4.0002.18, State Pharmacopoeia of the Russian Federation, ed. XIV); II: method for determining the antimicrobial activity of water-insoluble medicines (method of replications); III: quantitative method proposed by the authors.

¹⁰ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-362-369-tabl>

¹¹ Там же.

Таблица 3. Условия микробиологических методик количественного и качественного определения микроорганизмов в лекарственных средствах

Table 3. Conditions for microbiological analytical procedures for the quantitative and qualitative determination of micro-organisms in medicines

Условия методики <i>Analytical conditions</i>	Антимикробное действие лекарственного средства <i>Antimicrobial activity</i>	
	Присутствует <i>Present</i>	Отсутствует <i>Absent</i>
Количественное определение аэробных микроорганизмов, дрожжевых и плесневых грибов <i>Quantitative determination of aerobic micro-organisms, yeasts, and moulds</i>		
Минимальное разведение образца <i>Minimum sample dilution</i>	1:10	1:50
Минимальный объем образца, вносимый в чашку Петри, мл <i>Minimum volume of a sample added to a Petri dish, mL</i>	1	10
Диаметр используемых чашек Петри, мм <i>Petri dish diameter, mm</i>	90	150
Количество питательной среды, вносимой в чашку Петри, мл <i>Volume of a culture medium added to a Petri dish, mL</i>	10	50
Качественное определение отдельных видов бактерий (например, <i>Escherichia coli</i>) <i>Qualitative determination of specified micro-organisms (e.g. Escherichia coli)</i>		
Минимальное разведение образца <i>Minimum sample dilution</i>	1:10	1:50
Минимальный объем образца, вносимый в жидкую питательную среду, мл <i>Minimum volume of a sample added to a liquid culture medium, mL</i>	10	50
Объем питательной среды, мл <i>Volume of a culture medium, mL</i>	90	450

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

ВЫВОДЫ

1. Предложен методический подход к определению микробиологической чистоты ЛС, основанный на том, что результаты определения анализа следует считать достоверными только с учетом антимикробного действия испытуемого образца.

2. На примере различных лекарственных форм (мазь, гель, порошок и др.), обладающих антимикробным действием в минимально возможном разведении (1:10), показана целесообразность увеличения количества образца до 10 мл из разведения, в котором антимикробное действие отсутствует (1:50). Для посева рекомендовано использовать чашки Петри диаметром 150 мм

и 50 мл соответствующей агаризованной питательной среды.

3. Показана применимость следующих условий оценки микробиологической чистоты:

- использование разведения, при котором антимикробное действие отсутствует;
- увеличение количества образца пропорционально вносимому в питательную среду до регламентированного фармакопеями количества – не меньше 1 г (мл).

4. Рекомендовано использование разбавителей, содержащих в составе до 5% полисорбата-80, для инактивации бактериостатического и фунгистатического действия.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Буйлова ИА, Сахно НГ, Булгакова ГМ, Гунар ОВ. Исключение ложных результатов микробиологического анализа лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2018;8(3):187–92. Buylova IA, Sakhno NG, Bulgakova GM, Gunar OV. Elimination of false results of medicines microbiological testing. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*.

2018;8(3):187–92 (In Russ.).

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-187-192>

2. Каменская ЮВ. Антимикробное действие растительных экстрактов. *Наука, образование и культура*. 2019;(7):31–2. Kamenskaya YuV. Antimicrobial activity of plant extracts. *Science, Education and Culture*. 2019;(7):31–2 (In Russ.). EDN: KZYLYI
3. Буйлова ИА, Гунар ОВ. Применение поверхностно-активных веществ (ПАВ) при контроле качества лекарственных средств по микробиологическим

показателям. *Химико-фармацевтический журнал*. 2021;55(3):58–61.

<https://doi.org/10.30906/0023-1134-2021-55-3-58-61>

Builova IA, Gunar OV. Use of surfactants in quality control of solid dosage forms with respect to microbiological indicators. *Pharm Chem J*. 2021;55(3):308–11.

<https://doi.org/10.1007/s11094-021-02417-w>

4. Гунар ОВ, Сахно НГ. Микробиологическая безопасность лекарственных препаратов, содержащих этиловый спирт. *Биозащита и биобезопасность*. 2011;3(2):44–8.

Gunar OV, Sakhno NG. Microbiological safety of medicinal products containing ethyl alcohol. *Biosecurity and Biosafety*. 2011;3(2):44–8 (In Russ.).

EDN: [OQRBCJ](https://orcid.org/0000-0002-4825-8356)

Дополнительная информация. Таблица 4 размещена на сайте журнала «Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств».

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-362-369-tabl>

Вклад авторов. Авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Г.М. Булгакова – экспериментальное выполнение исследования, участие в обсуждении результатов и редактировании текста рукописи; О.В. Гунар – идея выполнения исследования, участие в обсуждении результатов, написание и редактирование текста рукописи.

Additional information. Table 4 is posted on the website of *Regulatory Research and Medicine Evaluation*.

<https://doi.org/10.30895/1991-2919-2024-14-3-362-369-tabl>

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Galina M. Bulgakova* conducted experiments, participated in the discussion of the study results and editing of the manuscript. *Olga V. Gunar* conceived the idea of the study and participated in the discussion of the study results and drafting and editing of the manuscript.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Гунар Ольга Викторовна, д-р фарм. наук / **Olga V. Gunar**, Dr. Sci. (Pharm.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4825-8356>

Булгакова Галина Михайловна / **Galina M. Bulgakova**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6474-4795>

Поступила 19.02.2024

После доработки 11.04.2024

Принята к публикации 18.06.2024

Received 19 February 2024

Revised 11 April 2024

Accepted 18 June 2024