



## Исключение ложных результатов микробиологического анализа лекарственных средств

И. А. Буйлова\*, Н. Г. Сахно, Г. М. Булгакова, О. В. Гунар

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

Достоверность результатов определения микробиологической чистоты лекарственных средств невозможна без доказательства пригодности используемой методики испытания. **Цель работы:** изучение факторов, влияющих на получение ложных результатов исследования микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств, и определение путей их устранения. **Материалы и методы:** объектами исследования были нестерильные лекарственные средства, предварительно исследованные на микробиологическую чистоту: N-метилглюкамин; L-яблочная кислота; ксероформ; финголимода гидрохлорид; янтарная кислота; стрептоцид; арипипразол; доксазозин; клопидогрел; моксонидин; тилорон; микофеноловая кислота; фолиевая кислота; габапентин; дутастерид; иматиниб; темозоломид. Для исследований использовали тест-штаммы *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Aspergillus brasiliensis*, реактивы, питательные среды и методы — определения антимикробного действия в условиях испытания микробиологической чистоты, модифицированный глубинный метод определения микробиологической чистоты ЛС в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII изд. **Результаты:** на основании анализа данных литературы выявлены основные причины возникновения ложных результатов микробиологических испытаний и выбраны пути их предотвращения. Представлены результаты экспериментального сравнения двух вариантов пробоподготовки твердых лекарственных форм: стандартного по Государственной фармакопее Российской Федерации XIII изд. и с использованием встряхивателя лабораторного. Экспериментально обоснованы особенности устранения антимикробного действия в отношении *B. subtilis* и *B. cereus* и использования специфических инактиваторов для отдельных лекарственных средств. **Выводы:** система мероприятий по предотвращению ложноположительных и ложноотрицательных результатов исследования должна включать: контроль стерильности используемых питательных сред, реактивов, мониторинг помещений; контроль ростовых свойств и селективности питательных сред; выбор подходящих условий инкубации и методики посева с учетом лекарственной формы препарата; обоснование используемого количества образца, растворителя и фактора разведения; учет антимикробного действия лекарственного средства.

**Ключевые слова:** микробиологическая чистота; нестерильные лекарственные препараты; ложноотрицательные результаты; антимикробное действие; микроорганизмы

**Для цитирования:** Буйлова ИА, Сахно НГ, Булгакова ГМ, Гунар ОВ. Исключение ложных результатов микробиологического анализа лекарственных средств. *Ведомости Научного Центра экспертизы средств медицинского применения*. 2018;8(3):187–192. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-187-192>

\***Контактное лицо:** Буйлова Ирина Александровна; [Builova@expmed.ru](mailto:Builova@expmed.ru)

## Elimination of False Results of Medicines Microbiological Testing

I. A. Buylova\*, N. G. Sakhno, G. M. Bulgakova, O. V. Gunar

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

The validity of medicines microbial quality testing relies on the adequacy of the test procedure employed. **The aim of the study** was to analyse factors triggering false results during microbial quality testing of non-sterile medicinal products, as well as to find ways of their elimination. **Materials and methods:** the study was focused on non-sterile medicinal products tested for microbial quality: N-methylglucamine, L-Malic acid, Xeroform, *Fingolimod hydrochloride*, Succinic acid, Streptocide, Aripiprazole, Doxazosin, Clopidogrel, Moxonidine, Tilorone, Mycophenolic acid, Folic acid, Gabapentin, Dutasteride, Imatinib, Temozolomide. The study involved the use of the following test strains: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Aspergillus brasiliensis*, as well as of reagents and growth media. The methods used were determination of antimicrobial activity under conditions of microbial quality testing, and modified in-depth testing of microbial quality of medicinal products according to the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th edition. **Results:** the analysis of literature sources helped reveal the main factors causing false results of microbiological testing and determine ways of their elimination. The article sets forth the results of experimental comparison of two ways of sample preparation for solid formulations: the standard one described in the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 13th edition, and the one involving the use of a laboratory shaker. The article provides experimental data on specific aspects of elimination of antimicrobial activity against *B. subtilis* and *B. cereus* and the use of specific inactivators for particular medicinal products. **Conclusions:** a set of measures aimed at prevention of false-positive and false-negative testing results should include: sterility control of the growth media and reagents used, monitoring of facilities; control of growth promotion properties and selectivity of the growth media; selection of adequate incubation conditions and inoculation procedure with due regard to the dosage form; justification of the amount of sample, diluents and dilution factor used; consideration of the antimicrobial activity of a medicinal product.

**Key words:** microbial quality; non-sterile medicinal products; false-negative results; antimicrobial activity; microorganisms

**For citation:** Buylova IA, Sakhno NG, Bulgakova GM, Gunar OV. Elimination of false results of medicines microbiological testing. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2018;8(3):187–192. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-187-192>

\*Corresponding author: Irina A. Buylova; Builova@expmed.ru

Микробиологическая чистота — важный показатель безопасности нестерильных лекарственных средств (НЛС). Одним из наиболее важных аспектов при определении качества НЛС по микробиологическим показателям является исключение ложных результатов исследования [1].

Наличие микроорганизмов в образце может существенно повлиять на их терапевтическую ценность, начиная со стабильности, заканчивая потенциальной опасностью для здоровья человека из-за токсигенных, аллергенных, а иногда и канцерогенных свойств некоторых видов бактерий и грибов, а также метаболитов [2].

Для исключения микробной контаминации в испытуемом образце необходимо экспериментальное доказательство пригодности микробиологической методики и анализ потенциальной возможности получения ложноположительных и ложноотрицательных результатов [3].

Под ложноположительными результатами микробиологических испытаний подразумевают обнаружение признаков роста микроорганизмов на питательных средах при фактическом их отсутствии в образце. Ложноотрицательные результаты означают отсутствие признаков роста микроорганизмов на питательных средах несмотря на их фактическое наличие в образце.

Цель работы — изучение факторов, влияющих на получение ложных результатов исследования микробиологической чистоты НЛС, и определение путей их устранения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. Объектами исследования были следующие лекарственные средства (ЛС):

- в виде субстанций: N-метилглюкамин; L-яблочная кислота; ксероформ; финголимода гидрохлорид; янтарная кислота;
- в форме порошка: стрептоцид, порошок для наружного применения;
- в форме таблеток: арипипразол; доксазозин; клопидогрел; моксонидин; тилорон; микофеноловая кислота; фолиевая кислота;
- в форме капсул: габапентин; дутастерид; иматиниб; темозоломид.

2. Тест-штаммы микроорганизмов:

- *Bacillus subtilis* (BGA) суспензия спор ATCC 6633 («Мерк», Германия);
- *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 8739 и *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 Bio-Ball® («биоМерье», Франция);
- *Bacillus cereus* ATCC 10702 вегетативные формы (Центр экспертизы и контроля медицинских иммунобиологических препаратов ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России).

3. Питательные среды и реактивы:

- раствор натрия хлорида 0,9 %;
- триптиказо-соевая среда (TSA);
- среда Сабура (SDCA);
- фосфатно-буферный раствор;
- нейтрализующая жидкость;
- подкисленная пептонная вода (в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,0 г пептона, 4,3 г натрия хлорида, доводят объем водой очищенной до метки и растворяют. Добавляют 80 мл хлористоводородной кислоты в разведении 1:1 (1 часть воды очищенной и 1 часть хлористоводородной кислоты концентрированной плотностью 1,19 г/см<sup>3</sup>), стерилизуют;
- щелочная пептонная вода с pH 8,6 (в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 1,0 г пептона, 68,0 г натрия гидроксида, 4,3 г натрия хлорида, растворяют при подогреве, доводят объем раствора водой очищенной до метки), стерилизуют.

4. Оборудование: инкубаторы («Биндер ГмбХ», Германия); ламинарный шкаф («Labconco», USA); счетчик колоний Scan 100 («Interscience», France), встряхиватель лабораторный IKA KS 501 digital («IKA®-Werke GmbH», Germany).

5. Расходные стерильные материалы: пипетки, чашки Петри, пробирки, флаконы.

Для исследований использовали методы Государственной фармакопеи Российской Федерации XIII изд. (ГФ XIII): определение антимикробного действия в условиях испытания микробиологической чистоты; модифицированный глубинный метод определения микробиологической чистоты ЛС [6].

Рассчитывали отношение количества колониеобразующих единиц (КОЕ) в исследуемой группе НЛС (в присутствии ЛС) к количеству КОЕ в контрольной группе (без ЛС), выраженное в процентах (коэффициент восстановления), по формуле

$$R = \frac{N}{N_0} \times 100 \%, \quad (1)$$

где:  $N$  — количество колоний, выделенных в ходе анализа, КОЕ;  $N_0$  — количество внесенных клеток микроорганизмов, КОЕ;  $R$  — коэффициент восстановления жизнеспособных микроорганизмов, %.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для исключения ложноположительных и ложноотрицательных результатов микробиологических испытаний был проведен анализ причин возникновения и необходимых мероприятий для их предотвращения (табл. 1).

**Таблица 1.** Виды, причины и меры предотвращения ложных результатов микробиологических испытаний лекарственных средств

**Table 1.** Types, causes and ways of prevention of false results of medicines microbiological testing

Причины возникновения	Меры предотвращения
Ложноположительные результаты	
Нестерильность применяемых питательных сред, материалов, реактивов	Контроль стерильности и подтверждение эффективности стерилизации
Окружающая среда (воздух, поверхности, одежда и др.)	Микробиологический мониторинг условий окружающей среды
Человеческий фактор (профессиональная подготовка, актуализированные рабочие инструкции и др.)	Обучение, пересмотр и обновление рабочих инструкций
Ложноотрицательные результаты	
Ростовые и селективные свойства питательных сред	Контроль качества используемых питательных сред
Условия инкубации посевов ЛС	Мониторинг температуры инкубаторов
Методика посева	Выбор методики и ее верификация
Лекарственная форма испытуемого образца	Анализ данных о растворимости ЛС в водных растворителях
Антимикробное действие ЛС	Определение антимикробного действия и способов его устранения
Пробоподготовка (количество ЛС, растворитель, разведение)	Использование растворителя, разведения ЛС и обоснование используемого количества пробы (в случае нестандартного подхода)
Учет результатов	Обучение, повышение квалификации персонала

Ложноположительные результаты микробиологического анализа качества ЛС возможно минимизировать и/или исключить путем отрицательных контролей, подразумевающих проверку стерильности сред, реактивов и материалов. Основными рисками, оказывающими влияние на ложноположительные результаты микробиологического исследования, являются: воздух, персонал, поверхности, правильность работы стерилизационного оборудования. Ложноположительные результаты исключаются путем соответствующего мониторинга помещений [4, 5].

Анализируя причины возникновения ложноотрицательных результатов испытаний (табл. 1), следует заключить, что они могут быть устранены за счет применения эффективной питательной среды и оптимизации условий проведения испытания исследуемого образца [4]. В настоящее время согласно ГФ XIII срок инкубации питательных сред с посевами ЛС составляет 5 сут вне зависимости от метода испытания, при температуре  $32,5 \pm 2,5$  °C для количественного определения аэробных микрооргани-

мов и  $22,5 \pm 2,5$  °C для подсчета дрожжевых и плесневых грибов [6].

Контаминанты ЛС подвергаются воздействию химических соединений, входящих в состав препарата, и различных факторов технологического процесса, оказывающих влияние на микроорганизмы. Для выделения потенциально поврежденных микроорганизмов необходимо учитывать способность клеток образовывать колонии на неселективной питательной среде, при отсутствии роста на селективных средах, и увеличение фазы роста поврежденных клеток по сравнению с нормальными [7]. Таким образом, угнетенные клетки могут присутствовать в образце, но не образовывать видимого роста, что создает угрозу получения ложноотрицательных результатов. Эффективным способом восстановления угнетенных микроорганизмов является использование накопительной питательной среды. Особое значение имеет выбор метода количественного определения микроорганизмов. Согласно ГФ XIII могут быть использованы:

- чашечные методы (глубинный, двухслойный, поверхностный, модифицированный глубинный);
- метод мембранной фильтрации;
- метод наиболее вероятных чисел (НВЧ).

Для получения достоверных результатов исследования необходимо учитывать лекарственную форму образца. Испытание различных лекарственных форм по микробиологическим показателям связано с распределением микроорганизмов в пробе. Существуют данные о том, что твердые частицы снижают возможность выделения микроорганизмов [8], повышая риск получения недостоверных результатов. Таким образом, необходимо оптимизировать выделение микроорганизмов из твердых лекарственных форм (таблетки, капсулы).

Для этого был выполнен эксперимент по сравнению результатов анализа после стандартной пробоподготовки по ГФ XIII и результатов после пробоподготовки с использованием встряхивателя лабораторного. Образцы, предварительно исследованные на микробиологическую чистоту, не содержащие микроорганизмов-контаминантов, инокулировали смесью тест-штаммов в теоретическом количестве от 50 до 100 КОЕ/г перед растворением. Процедура выделения микроорганизмов полностью воспроизводила процесс испытания по показателю «Микробиологическая чистота» с использованием аналогичной подготовки образцов, питательных сред и лабораторного оборудования. Образцы растворяли в буферном растворе в соотношении 1:10, и встряхивали в течение 15–30 минут с частотой встряхивания 120 об/мин. После посевов чашечным агаровым методом образцы инкубировали при температуре  $32,5 \pm 2,5$  °C в течение 5 суток. Производили подсчет микроорганизмов по окончании инкубации.

Для группы образцов, пробоподготовка которых проводилась с применением встряхивателя, критерий приемлемости выполнялся во всех случаях: процент восстановления микроорганизмов составлял 70–123 %. Для образцов, пробоподготовка которых выполнялась по стандартной методике ГФ XIII,

**Таблица 2.** Коэффициент восстановления микроорганизмов, выделенных из нестерильных лекарственных средств

**Table 2.** Regeneration rate of microorganisms obtained from non-sterile medicinal products

Наименование препарата	Пробоподготовка по ГФ XIII				Пробоподготовка с использованием встряхивателя			
	Наименование питательной среды							
	TSA (триптиказо-соевый агар)		SDCA (Агар Сабуро)		TSA (триптиказо-соевый агар)		SDCA (Агар Сабуро)	
	Тест-штаммы (КОЕ, $X_{cp} \pm \Delta X$ ), Коэффициент восстановления (%)							
	A.b.	C.a. B.s. E.c. (смесь)	A.b.	C.a.	A.b.	C.a. B.s. E.c. (смесь)	A.b.	C.a.
Арипипразол, таблетки	17 ± 4 <b>89</b>	24 ± 0,5 <b>38</b>	20 ± 3 <b>107</b>	17 ± 2 <b>53</b>	23 ± 0,5 <b>123</b>	48 ± 2 <b>75</b>	23 ± 3 <b>121</b>	23 ± 1 <b>73</b>
Контроль культуры	19 ± 3	64 ± 10	19 ± 1	32 ± 1	19 ± 3	64 ± 10	19 ± 3	32 ± 1
Габапентин, капсулы	53 ± 8 <b>50</b>	48 ± 2 <b>54</b>	52 ± 6 <b>65</b>	15 ± 1 <b>83</b>	78 ± 1,5 <b>75</b>	74 ± 1,5 <b>84</b>	60 ± 5 <b>75</b>	15 ± 1 <b>93</b>
Контроль культуры	104 ± 6	88 ± 3	80 ± 1	16 ± 1	104 ± 6	88 ± 3	80 ± 1	16 ± 1
Моксонидин, таблетки	42 ± 2 <b>95</b>	30 ± 3,5 <b>67</b>	34 ± 6 <b>80</b>	12 ± 1 <b>50</b>	55 ± 2 <b>125</b>	38 ± 2 <b>87</b>	40 ± 2 <b>90</b>	18 ± 2 <b>75</b>
Контроль культуры	44 ± 6	45 ± 3	44 ± 6	24 ± 2	44 ± 6	45 ± 3	44 ± 6	24 ± 2
Фолиевая кислота, таблетки	19 ± 1 <b>100</b>	30 ± 6 <b>46</b>	16 ± 2 <b>86</b>	25 ± 1 <b>80</b>	21 ± 1 <b>110</b>	45 ± 5 <b>70</b>	19 ± 1 <b>100</b>	31 ± 1 <b>96</b>
Контроль культуры	19 ± 3	64 ± 10	19 ± 1	32 ± 1	19 ± 3	64 ± 10	19 ± 3	32 ± 1

Примечание. A.b. — *Aspergillus brasiliensis*, C.a. — *Candida albicans*, B.s. — *Bacillus subtilis*, E.c. — *Escherichia coli*,  $X_{cp} \pm \Delta X$  — среднее количество КОЕ.

отмечался разброс результатов 38–107 %. При этом на среде TSA (триптиказо-соевый агар) отмечено пять случаев, когда результат был ниже критерия приемлемости (процент восстановления более 70 % является критерием приемлемости используемой методики согласно Европейской фармакопее [9]).

В таблице 2 представлены результаты оценки восстановления микроорганизмов из твердых лекарственных форм с учетом предварительного разведения препарата 1:10 согласно схеме испытания.

Если исследуемый препарат оказывает ингибирующее действие на микроорганизмы, которые выявляют в НЛС, это действие должно быть нейтрализовано во избежание ложной оценки результатов испытания на микробиологическую чистоту [10]. Необходимость проведения данного этапа продемонстрирована различными авторами [4].

В ходе рутинного контроля по определению микробиологической чистоты был накоплен материал по антимикробному действию различных НЛС. Было отмечено, что антимикробное действие в отношении *B. subtilis* и *B. cereus* снимается не одинаково. Для нейтрализации его действия в отношении спор *B. subtilis* необходимы большие разведения препарата. Очевидно, это обусловлено биохимической природой тест-штамма, которая имеет отличия от вегетативных клеток *B. cereus*, выращенных в течение 5 сут инкубации в стандартных условиях [11].

В таблице 3 приведены результаты исследования по сравнению антимикробного действия в отношении *B. subtilis* и *B. cereus*.

**Таблица 3.** Результаты сравнительных исследований по устранению антимикробного действия лекарственного средства

**Table 3.** Results of comparative studies of elimination of antimicrobial activity of medicinal products

Наименование НЛС	Тест-штамм	
	<i>B. subtilis</i>	<i>B. cereus</i>
	Разведение ЛС, при котором нейтрализуется антимикробное действие	
Доксазозин, таблетки	1:50	1:10
Дутастерид, капсулы	1:500	1:100
Иматиниб, капсулы	1:100	1:10
Клопидогрел, таблетки	1:50	1:10
Ксероформ, субстанция	1:1000	1:10
Тилорон, таблетки	1:500	1:100
Стрептоцид, порошок	1:50	1:10
Темозоломид, капсулы	1:1000	1:100
Микофеноловая кислота, таблетки	1:100	1:50
Финголимода гидрохлорид, субстанция	1:500	1:100

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности проведения сравнительных исследований антимикробного действия в отношении

штаммов *B. subtilis* и *B. cereus* для исключения ложноотрицательных результатов исследования.

При анализе микробиологической чистоты во избежание ложноотрицательных результатов особое внимание необходимо уделять пробоподготовке образцов, а именно растворению образца путем встряхивания.

Согласно ГФ XIII при оценке микробиологической чистоты ЛС используют [6]:

- 10 г (мл) для определения общего количества аэробных микроорганизмов и выделения *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*,

- 10 г (мл) — для энтеробактерий, устойчивых к желчи,

- 10 или 25 г (мл) — для выделения бактерий рода *Salmonella*.

Разработаны методики по уменьшению количества образца. Однако для того чтобы изменение количества пробы не стало причиной получения ложных результатов испытания, требуется проведение валидационного исследования [12].

Для исключения ложноотрицательных результатов микробиологического исследования важно использовать растворитель, который не будет оказывать токсического действия на микроорганизмы, возможно, содержащиеся в ЛС. Для этого необходимо проводить испытание контрольной группы (положительный контроль) без ЛС с использованием микроорганизмов.

Важно учитывать и фактор разведения, так, например, для ЛС, обладающих антимикробным действием, возможно применение специфических растворителей, нейтрализующих антимикробное действие конкретного препарата и не являющихся токсичными, лишь в определенном разведении. Так, для субстанции N-метилглюкамин возможно снятие антимикробного действия в разведении 1:100 с использованием в качестве растворителя подкисленной пептонной воды. При использовании разведения 1:500, 1:1000 рост микроорганизмов

отсутствует, следовательно, применение большего объема растворителя оказывает бактерицидное и фунгицидное действие на микроорганизмы. При использовании щелочной пептонной воды в качестве растворителя субстанций L-яблочной и янтарной кислот в разведении 1:10 антимикробное действие нейтрализовывалось, а при больших разведениях 1:100, 1:500, 1:1000 рост микроорганизмов отсутствовал. Во всех трех случаях контроль культуры в присутствии специфического растворителя без препарата давал отрицательные результаты, что свидетельствует о токсичности растворителя без препарата для микроорганизмов. При контроле культуры с обычным растворителем (фосфатно-буферный раствор) все микроорганизмы давали положительный результат (табл. 4).

Важным фактором, влияющим на рост и развитие микроорганизмов, является pH. Оптимальные значения для большинства патогенных бактерий составляют 6–8, для дрожжевых и плесневых грибов — 5–6 [13]. Смещение pH в неоптимальный диапазон для развития тест-штамма приводит к ингибированию его роста, что и наблюдалось в данном исследовании. Поэтому целесообразно учитывать влияние растворителя на возможные микроорганизмы-контаминанты лекарственных средств и фактор разведения отобранной пробы в специфических растворителях.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предотвращение ложной оценки качества ЛС является важнейшим аспектом получения достоверных результатов определения микробиологической чистоты. Система мероприятий по предотвращению возможности получения ложноположительных (контроль стерильности используемых питательных сред, реактивов, мониторинг помещений) и ложноотрицательных результатов исследования (контроль ростовых свойств и селективности питательных сред, выбор подходящих условий инкуба-

**Таблица 4.** Применение специфического инактиватора для нейтрализации антимикробного действия фармацевтических субстанций

**Table 4.** The use of a specific inactivator for neutralization of antimicrobial activity of pharmaceutical substances

Наименование НЛС	Растворитель	Тест-штаммы			
		<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>
		Разведение, при котором снимается антимикробное действие			
N-метилглюкамин, субстанция	Подкисленная пептонная вода	1:100	1:100	1:100	1:100
L-яблочная кислота, субстанция	Щелочная пептонная вода	1:10	1:10	1:10	1:10
Янтарная кислота, субстанция	Щелочная пептонная вода	1:10	1:10	1:10	1:10
Контроль культуры с использованием в качестве растворителя щелочной пептонной воды		–	–	–	–
Контроль культуры с использованием в качестве растворителя подкисленной пептонной воды		–	–	–	–
Контроль культуры с использованием в качестве растворителя фосфатно-буферного раствора		+	+	+	+

Примечание. «–» обозначает отсутствие роста микроорганизмов, «+» — наличие роста микроорганизмов.

ции и методики посева, учет лекарственной формы препарата, обоснование используемого количества образца, растворителя и фактора разведения, учет антимикробного действия) в комплексе обеспечат объективную оценку качества микробиологической чистоты НЛС.

**Благодарности.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

**Acknowledgements.** The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590049-0).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.  
**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Гунар ОВ, Сахно НГ, Новик ЕС, Булгакова ГМ, Колосова ЛВ, Буйлова ИА и др. Развитие микробиологических методов анализа лекарственных средств. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2016;(1):15–8. [Gunar OV, Sakhno NG, Novik ES, Bulgakova GM, Kolosova LV, Buylova IA, et al. Development of microbiological methods of drug analysis. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2016;(1):15–8 (In Russ.)]
- Гунар ОВ. Микрофлора лекарственных средств и различные аспекты ее изучения (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2011;(2):31–40. [Gunar OV. Microflora of medicines and various aspects of its study (review). *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharm Chem J*. 2011;(2):31–40 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2011-45-2-31-40>
- Гунар ОВ. Риск получения ложных микробиологических результатов при контроле качества лекарственных средств. *Фармация*. 2005;(2):29–31. [Gunar OV. The risk for obtaining false microbiological results in the quality control of drugs. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2005;(2):29–31 (In Russ.)]
- Гунар ОВ, Сахно НГ, Абрамович РА. *Основы валидации микробиологических методов фармацевтического анализа*. М.: РУДН; 2017. [Gunar OV, Sakhno NG, Abramovich RA. *Basics of validation of microbiological methods of pharmaceutical analysis*. Moscow: PFUR; 2017 (In Russ.)]
- Гунар ОВ, Сахно НГ, Рощина МВ. Микробиологический мониторинг помещений лаборатории микробиологии. Анализ рисков. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2013;(4):12–7. [Gunar OV, Sakhno NG, Roshchina MV. Microbiological monitoring of the premises of the microbiology laboratory. Risk analysis. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya = The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products*. 2013;(4):12–7 (In Russ.)]
- Общая фармакопейная статья 1.2.4.0002.15 Микробиологическая чистота. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIII изд. Т. 1. М.; 2015. [General monograph 1.2.4.0002.15 Microbiological purity. The State pharmacopoeia of the Russian Federation. 13th ed. V. 1. Moscow; 2015 (In Russ.)]
- Гунар ОВ, Сахно НГ, Булгакова ГМ, Буйлова ИА. Особенности выделения некоторых видов бактерий из лекарственных средств. *Фармация*. 2015;(3):47–52. [Gunar OV, Sakhno NG, Bulgakova GM, Buylova IA. Specific characteristics of isolation of some bacterial species from medications. *Farmatsiya = Pharmacy*. 2015;(3):47–52 (In Russ.)]
- Niemelä S. *Uncertainty of Quantitative Determinations Derived by Cultivation of Microorganisms*. Helsinki: Centre for Metrology and Accreditation; 2002.
- European Pharmacopoeia. 9th ed. Strasbourg; 2017. Available from: <http://online.edqm.eu>
- Гунар ОВ, Каграманова КА. Методы определения антимикробного действия лекарственных средств. *Химико-фармацевтический журнал*. 2005;(5):53–6. [Gunar OV, Kagramanova KA. Methods for determining the antimicrobial activity of drugs. *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal = Pharm Chem J*. 2005;(5):53–6 (In Russ.)]. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2005-39-5-53-56>
- Wunschel D, Fox KF, Black GE, Fox A. Discrimination among the *B. cereus* group, in comparison to *B. subtilis*, by structural carbohydrate profiles and ribosomal RNA spacer region PCR. *Syst Appl Microbiol*. 1995;17(4):625–35. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(11\)80085-8](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(11)80085-8)
- Буйлова ИА. Разработка методического подхода к анализу микробиологической чистоты отдельных групп нестерильных лекарственных средств: дис. ... канд. фарм. наук. М.; 2016. [Buylova IA. Development of a methodical approach to the determination of microbiological purity of non-sterile drugs: Cand. Pharm. Sci. [dissertation]. Moscow; 2016 (In Russ.)]
- Галынкин ВА, Заикина НА, Кочеровец ВИ, Курбанова ИЗ. *Путательные среды. Справочник*. СПб: Проспект науки; 2006. [Galynkin VA, Zaikina NA, Kocherovets VI, Kurbanova IZ. *Culture media. Handbook*. St. Petersburg: Prospekt nauki; 2006 (In Russ.)]

## ОБ АВТОРАХ

**Буйлова Ирина Александровна**, канд. фарм. наук, эксперт 1-й категории лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3787-269X>

**Сахно Надежда Геннадьевна**, канд. фарм. наук, ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1773-7423>

**Булгакова Галина Михайловна**, ведущий эксперт лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6474-4795>

**Гунар Ольга Викторовна**, д-р фарм. наук, начальник лаборатории микробиологии Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4825-8356>

## AUTHORS

**Irina A. Buylova**, Cand. Sci. (Pharm.), 1st Professional Category Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-3787-269X>

**Nadezhda G. Sakhno**, Cand. Sci. (Pharm.), Leading Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1773-7423>

**Galina M. Bulgakova**, Leading Expert of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6474-4795>

**Olga V. Gunar**, Dr. Sci. (Pharm.), Head of the Microbiology Laboratory of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-4825-8356>

Статья поступила 13.02.2018  
Принята к печати 22.08.2018

Article was received 13 February 2018  
Accepted for publication 22 August 2018