

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-123-130>  
УДК 615.076



Обзорная статья / Review article

## Стандартизация требований к питательным средам, используемым для оценки качества лекарственных средств (обзор)

С. М. Суханова ✉

<sup>1</sup> ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России), 127051, Россия, г. Москва, Петровский б-р, д. 8, стр. 2

✉ Контактное лицо: Суханова Светлана Михайловна. E-mail: SuhanovaSM@expmед.ru

ORCID: С. М. Суханова – <https://orcid.org/0000-0001-6621-4384>.

Статья поступила: 01.02.2022

Статья принята в печать: 31.01.2023

Статья опубликована: 24.02.2023

### Резюме

**Введение.** Надежность оценки качества и безопасности лекарственных средств (ЛС) по биологическим показателям напрямую связана с применением питательных сред (ПС), отвечающих установленным требованиям. Однако при проведении испытаний следует учитывать особенности питательных сред, обусловленные наличием в их составе компонентов биологического происхождения. В частности, высокая степень вариабельности и неустойчивая стабильность сырья, а также возможные ошибки при приготовлении и хранении сред, создают предпосылки для возникновения отклонений. Использование питательных сред промышленного производства также не гарантирует их пригодность для соответствующего испытания. Для получения достоверных результатов соответствие каждой партии ПС заданным критериям должно подтверждаться стандартными методами с использованием всего перечня значимых показателей. Отсутствие в настоящее время в Российской Федерации государственного стандарта, регламентирующего требования к порядку использования питательных сред при подтверждении качества лекарственных средств, значительно затрудняет оценку пригодности, сопоставимости и достоверности результатов анализа, как самих ПС, так и фармацевтических препаратов.

**Текст.** В статье рассматривается проект общей фармакопейной статьи (ОФС) «Питательные среды», в котором представлены общие требования к питательным средам при использовании их в фармакопейном анализе. Стандарт предназначен для специалистов занимающихся разработкой, совершенствованием и применением методов и/или методик, необходимых для подтверждения свойств лекарственных препаратов с целью регистрации, ввода в гражданский оборот, а также при их производстве. Документ составлен с учетом современных отечественных и международных подходов надлежащих фармацевтических практик к оценке качества ЛС, предусматривающих применение питательных сред. В проекте определены ключевые факторы в наибольшей степени, влияющие на качество питательных сред. На основе принципа преемственности составлен и подробно описан комплекс стандартизованных методов контроля, включая испытания по физико-химическим и биологическим показателям. Приведены критерии пригодности. Для исследования специфических свойств установлены требования к тестовым культурам. Регламентируются особые требования к питательным средам, используемым для получения биологических лекарственных препаратов. Описана процедура хранения и утилизации питательных сред, непригодных для использования.

**Заключение.** Введение ОФС «Питательные среды» в практику отечественного фармакопейного анализа позволит повысить достоверность результатов оценки эффективности и безопасности лекарственных средств, и как следствие приведет к снижению производственных рисков и рисков причинения вреда здоровью пациентов при фармакотерапии и иммунопрофилактике. Предложенные подходы могут быть использованы в других отраслях науки и производства.

**Ключевые слова:** безопасность, эффективность, оценка рисков, биологические методы, фармакопейный стандарт; лекарственные средства; оценка пригодности

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Автор осуществила обзор публикаций, разработку проекта стандарта, написание текста рукописи, проверку конечной версии рукописи и перевод.

**Благодарность.** Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-22-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121022000147-4).

**Для цитирования:** Суханова С. М. Стандартизация требований к питательным средам, используемым для оценки качества лекарственных средств. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2023;12(1):123–130. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-123-130>

## Standardization of Requirements for Culture Media Used to Assess the Quality of Drugs (Review)

Svetlana M. Sukhanova ✉

Federal State Budgetary Institution "Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products" of the Ministry of Health of the Russian Federation (FSBI "SCEEMP"), 8/2, Petrovsky bul'var, Moscow, 127051, Russia

✉ Corresponding author: Svetlana M. Sukhanova. E-mail: SuhanovaSM@expmед.ru

ORCID: Svetlana M. Sukhanova – <https://orcid.org/0000-0001-6621-4384>.

Received: 01.02.2022

Revised: 31.01.2023

Published: 24.02.2023

© Суханова С. М., 2023

© Sukhanova S. M., 2023

## Abstract

**Introduction.** A reliable assessment of the quality and safety of medical products (MP) by biological indicators is directly related to the use of culture media (CM) that meet the established requirements. However, when conducting trial, it is necessary to take into account the peculiarities of culture media due to the presence in their composition of components of biological origin. In particular, a high degree of variability and unstable stability of raw materials, as well as possible mistakes in producing and storage of media, create the prerequisites for deviations. The use of industrial culture media also does not guarantee their suitability for the appropriate test. Therefore to obtain reliable results, the compliance of each batch CM with the specified criteria be confirmed must be confirmed by standard methods using the full range of meaningful indicators. The current lack of a state standard in the Russian Federation regulating the requirements for the use of culture media when confirming the quality of medical products makes it much more difficult to assess the suitability, comparability and reliability of the analysis results, both themselves CM and drugs.

**Text.** The article discusses the draft General Pharmacopoeia Article (GPM) "Culture media", which presents the general requirements for of culture media when used in pharmacopoeia analysis. The standard is intended for specialists involved in the development, improvement and application of methods and / or techniques necessary for confirming the properties of medical products for the purpose of registration, entry into civil circulation, as well as in their production. The document was drawn up taking into account modern domestic and international approaches of good pharmaceutical practices to the assessment of the drugs that involve the use of culture media. The project identifies the key factors that most affect the quality of culture media. Based on the principle of continuity, compiled and described in detail a set of standardized control methods, including tests on physical-chemical and biological indicators. For exploring of specific properties, there are requirements for test cultures have been established. Governs special requirements for culture media used to obtain biological medical products are regulated. The procedure for storage and disposal of culture media unsuitable for use is described.

**Conclusion.** The introduction of the GPM "Culture media" into the practice of domestic pharmacopoeic analysis will increase the reliability of the results of the evaluation of the effectiveness and safety of drugs, and as a result will lead to a reduction in production risks and risks of harm to health patients during in pharmacotherapy and immunoprophylaxis. The proposed approaches can also be used in other branches of science and industry.

**Keywords:** safety, efficacy, risk assessment, biological methods, pharmacopoeia standard; drugs, assessment of suitability

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** The author reviewed the publications, developed the draft standard, wrote the text of the manuscript, checked the final version of the manuscript and translated it.

**Acknowledgment.** The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project № 056-00001-22-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No. 121022000147-4).

**For citation:** Sukhanova S. M. Standardization of requirements for culture media used to assess the quality of drugs. *Drug development & registration*. 2023;12(1):123–130. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2023-12-1-123-130>

## ВВЕДЕНИЕ

Посев на питательные среды (ПС) по-прежнему остается основным способом, используемым для подсчета и обнаружения различных видов микроорганизмов при оценке качества, эффективности и безопасности лекарственных средств. Согласно Государственной фармакопеи Российской Федерации применение ПС регламентировано требованиями более 30 общих фармакопейных статей, распространяющихся на общие методы испытаний и отдельные лекарственные формы, а также значительным числом частных фармакопейных статей, устанавливающих требования к оценке специфической активности, эффективности, микробной контаминации, безопасности и подлинности, различных по своей природе лекарственных средств (ЛС) [1]. Достоверность результатов данных испытаний обеспечивается в значительной степени применением питательных сред с заданными свойствами. Вместе с тем вариабельность свойств, входящего в состав ПС, сырья биологическо-

го происхождения, возможные ошибки при приготовлении и хранении, а также различия в стандартах качества ПС промышленного производства могут стать причиной несоответствия<sup>1,2</sup> [3–6]. Специалистам хорошо известно, что свойства питательных сред одного наименования, но выпускаемых разными фирмами-производителями, могут существенно отличаться, как по физико-химическим (прочность геля, pH, аммонийный азот, содержание хлоридов и др.), так и по биологическим показателям (чувствительность, контрольные культуры микроорганизмов) [1, 7]. Более того производители могут использовать неодинаковые подходы к перечню определяемых характеристик

<sup>1</sup> WHO Expert Committee on Biological Standardization. WHO Technical Report Series No. 978. 2010. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241209786/> Accessed: 09.06.2022.

<sup>2</sup> МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200067870/> Ссылка активна на 09.06.2022.

сред одного и того же наименования, а также различные уровни и методы контроля. Оценка качества может не включать испытание на наличие ростовых свойств или проводиться в соответствии с частными стандартами или руководствами<sup>1</sup>. Именно поэтому для обеспечения функционирования фармацевтической системы качества, включающей надлежащую производственную практику и управление рисками<sup>2</sup>, возникает необходимость не только формирования четких критериев пригодности ПС, но и обязательно подтверждения соответствия каждой партии среды установленным требованиям<sup>3, 4, 5, 6</sup> [8, 9]. Использование сред без подтверждения их пригодности, является существенным фактором риска получения ошибочных результатов анализа и как следствие выпуска лекарственных средств, не отвечающих установленным критериям<sup>7, 8</sup> [2, 10]. При этом важно учитывать, что несоответствие свойств питательной среды требованиям, необходимым для оценки качества ЛС, может стать причиной получения как ложноположительного (безопасность), так и ложноотрицательного результата (эффективность, подлинность). Среди воз-

можных негативных последствий неправильной оценки – причинение вреда здоровью конечного потребителя ЛС и финансовые издержки производителя [30].

Кроме того, проведенный нами ранее всесторонний анализ нормативной базы, определяющей требования к питательным средам показал, что в настоящее время в Российской Федерации отсутствует государственный стандарт, регламентирующий порядок использования питательных сред при проведении контроля качества ЛС. Существующая информация по работе с питательными средами должным образом не систематизирована, изложена фрагментарно, без учета особенностей применения и имеет немало существенных разночтений. Такая ситуация значительно затрудняет подходы к оценке пригодности, а также сопоставимости и достоверности получаемых результатов анализа, как самих питательных сред, так и лекарственных препаратов [1]. Более того, целесообразность разработки и принятия нового документа обусловлена необходимостью приведения информации по данному вопросу в соответствие с актуальными требованиями Правил надлежащей производственной практики Российской Федерации, Евразийского экономического союза и гармонизации с мировой практикой<sup>9, 10, 11, 12, 13, 14</sup>. Учитывая, что в нашей стране при обращении лекарственных средств в отношении их безопасности, качества и эффективности установлен приоритет государственного регулирования, а Всемирной организацией здравоохранения рекомендовано создание нормативно-правовой базы национальной системы регулирования медицинских изделий, формирование соответствующих

<sup>1</sup> Dehydrated Culture Media. Available at: <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/marketing/global/documents/133/672/dehydrated-culture-media-br6639en-mk.pdf>/ Accessed: 09.06.2022.

<sup>2</sup> Правила надлежащей производственной практики Евразийского экономического (№77 от 03.11.2016). Доступно по: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd\\_21112016\\_77/](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd_21112016_77/) Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>3</sup> WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. WHO Technical Report Series. Annex 2. No. 961. 2011. Available at: <https://pdf4pro.com/view/annex-6-who-good-manufacturing-practices-for-18a34d.html>. Accessed: 09.06.2022.

<sup>4</sup> Приказ Минпромторга России от 14.06. 2013 г. № 916 «Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств». Доступно по: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70351198/> Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>5</sup> Accreditation for Microbiological Laboratories EURACHEM/EA Guide 04/10. Available at: [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/EurachemEA\\_Micro.pdf/](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/EurachemEA_Micro.pdf/) Accessed: 09.06.2022.

<sup>6</sup> General European OMCL Network (GEON) QUALITY MANAGEMENT DOCUMENT PA/PH/OMCL (11) 157 R8 MANAGEMENT OF REAGENTS. Available at: [https://www.edqm.eu/en/d/129417?p\\_i\\_back\\_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3DQUALITY%2BMANAGEMENT%2BDOCUMENT%2BPA%252FFPH%252FOMCL%2B%252811%2529%2B157%2BR8%2BMANAGEMENT%2BOF%2BREAGENTS](https://www.edqm.eu/en/d/129417?p_i_back_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3DQUALITY%2BMANAGEMENT%2BDOCUMENT%2BPA%252FFPH%252FOMCL%2B%252811%2529%2B157%2BR8%2BMANAGEMENT%2BOF%2BREAGENTS). Accessed: 08.06.2021.

<sup>7</sup> Правила надлежащей производственной практики Евразийского экономического (№ 77 от 03.11.2016). Доступно по: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd\\_21112016\\_77/](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd_21112016_77/) Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>8</sup> ГОСТ ISO 11133-2016. Межгосударственный стандарт. Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200141101/> Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>9</sup> Правила надлежащей производственной практики Евразийского экономического (№ 77 от 03.11.2016). Доступно по: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd\\_21112016\\_77/](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd_21112016_77/) Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>10</sup> Приказ Минпромторга России от 14.06.2013. № 916 «Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств». Доступно по: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70351198/> Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>11</sup> Accreditation for Microbiological Laboratories EURACHEM/EA Guide 04/10. Available at: [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/EurachemEA\\_Micro.pdf/](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/EurachemEA_Micro.pdf/) Accessed: 09.06.2022.

<sup>12</sup> General European OMCL Network (GEON) QUALITY MANAGEMENT DOCUMENT PA/PH/OMCL (11) 157 R8 MANAGEMENT OF REAGENTS. Available at: [https://www.edqm.eu/en/d/129417?p\\_i\\_back\\_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3DQUALITY%2BMANAGEMENT%2BDOCUMENT%2BPA%252FFPH%252FOMCL%2B%252811%2529%2B157%2BR8%2BMANAGEMENT%2BOF%2BREAGENTS](https://www.edqm.eu/en/d/129417?p_i_back_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3DQUALITY%2BMANAGEMENT%2BDOCUMENT%2BPA%252FFPH%252FOMCL%2B%252811%2529%2B157%2BR8%2BMANAGEMENT%2BOF%2BREAGENTS). Accessed: 08.06.2021.

<sup>13</sup> МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200067870/> Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>14</sup> ГОСТ Р ЕН 12322-2010. Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Питательные среды для микробиологии. Критерии функциональных характеристик питательных сред. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200082586/> Ссылка активна на 09.06.2022.

фармакопейных требований к питательным средам является актуальной задачей<sup>1</sup>.

Таким образом, целью настоящей работы является разработка проекта общей фармакопейной статьи ОФС «Питательные среды».

При составлении настоящего проекта были учтены современные подходы ведущих зарубежных фармакопей, а также других отечественных и международных документов, направленных на повышение уровня фармакопейного анализа в части, касающейся использования питательных сред. С целью сохранения преемственности принятые в нашей стране стандартные методы контроля питательных сред разработаны и изложены исходя из норм отечественной фармакопей<sup>2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9</sup>.

### Проект ОФС «Питательные среды»

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на общие требования к питательным средам (ПС), используемым для анализа качества ле-

карственных средств. Питательные среды – субстраты, предназначенные для культивирования и хранения микроорганизмов и культур клеток.

ПС используют для получения биологических лекарственных препаратов, для оценки качества всех групп ЛС и их компонентов по биологическим показателям (анализ чистоты, специфическая активность), для проведения подготовительных процедур (ведение тестовых культур).

**Качество питательной среды** – совокупность свойств среды, обуславливающих способность удовлетворять требованиям в соответствии с ее назначением. Качество ПС зависит от свойств основных ингредиентов среды, уровня их микробного загрязнения, правильности рецептуры, методики приготовления, а также соблюдения надлежащих условий хранения и упаковки.

Для испытания ЛС могут быть использованы готовые к применению коммерческие ПС и среды, изготовленные в лабораторных условиях из отдельных компонентов или сухих коммерческих препаратов. Оценку соответствия установленным требованиям проводят для всех используемых ПС. Основным критерием при решении вопроса о пригодности ПС является важность соблюдения принципов управления рисками для качества.

**Подготовка сред.** Для анализа ЛС и их компонентов проводят подготовку ПС, включающую этапы приготовления, стерилизацию (при необходимости) и контроль качества.

Приготовление сред из сухих препаратов проводят в строгом соответствии с инструкцией изготовителя [порядок внесения и растворения компонентов, фильтрация, нагревание, кипячение, необходимость корректировки и допустимый диапазон значения pH после стерилизации, режим стерилизации (при необходимости) для соответствующей фасовки и вида герметизации (завальцовка, пробки)]. Навеска сухой ПС должна полностью растворяться. Исключение могут составлять среды, в состав которых входят нерастворимые компоненты, вызывающие незначительную опалесценцию и не мешающие визуальной интерпретации результатов при оценке качества ЛС по биологическим показателям.

При внесении изменений в процедуру подготовки сред промышленного производства, а также сред, изготавливаемых из отдельных компонентов, все условия приготовления должны быть валидированы.

Для приготовления сред используют химически инертную стеклянную или пластиковую посуду, не содержащую в своем составе щелочных компонентов и предназначенную для соответствующего нагрева. Не следует использовать металлическую посуду, являющуюся источником ионов тяжелых металлов, обладающих ингибиторными свойствами. Вода, используемая для приготовления питательных сред, должна

<sup>1</sup> Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» (в ред. Федеральных законов № 192-ФЗ от 27.07.2010. № 271-ФЗ от 11.10.2010; №313ФЗ от 29.11.2010). Доступно по: [http://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_99350/](http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_99350/) Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>2</sup> Правила надлежащей производственной практики Евразийского экономического (№ 77 от 03.11.2016). Доступно по: [https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd\\_21112016\\_77/](https://docs.eaeunion.org/docs/ru-ru/01411921/cncd_21112016_77/) Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>3</sup> Приказ Минпромторга России от 14.06. 2013 г. № 916 «Об утверждении Правил организации производства и контроля качества лекарственных средств». Доступно по: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70351198/> Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>4</sup> Accreditation for Microbiological Laboratories EURACHEM/EA Guide 04/10. Available at: [https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/EurachemEA\\_Micro.pdf/](https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/EurachemEA_Micro.pdf/) Accessed: 09.06.2022.

<sup>5</sup> General European OMCL Network (GEON) QUALITY MANAGEMENT DOCUMENT PA/PH/OMCL (11) 157 R8 MANAGEMENT OF REAGENTS. Available at: [https://www.edqm.eu/en/d/129417?p\\_l\\_back\\_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3DQUALITY%2BMANAGEMENT%2BDOCUMENT%2BPA%252FPH%252FOMCL%2B%252811%2529%2B157%2BR8%2BMANAGEMENT%2BQF%2BREAGENTS/](https://www.edqm.eu/en/d/129417?p_l_back_url=%2Fen%2Fsearch-edqm%3Fq%3DQUALITY%2BMANAGEMENT%2BDOCUMENT%2BPA%252FPH%252FOMCL%2B%252811%2529%2B157%2BR8%2BMANAGEMENT%2BQF%2BREAGENTS/) Accessed: 08.06.2021.

<sup>6</sup> МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред». Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200067870/> Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>7</sup> ГОСТ Р ЕН 12322-2010. Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Питательные среды для микробиологии. Критерии функциональных характеристик питательных сред. Доступно по: <https://docs.cntd.ru/document/1200082586/> Ссылка активна на 09.06.2022.

<sup>8</sup> USP 41-NF36 General chapters: <1117> Microbiological best laboratory practices. Available at: <https://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp35/PDF/0707-0712%20%5B1117%5D%20MICROBIOLOGICAL%20BEST%20LABORATORY%20PRACTICES.pdf/> Accessed: 09.06.2022.

<sup>9</sup> Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. 1–4. Доступно по: <https://femb.ru/record/pharmacopoeia14>. Ссылка активна на 09.06.2022.

соответствовать требованиям ФС.2.2.0020.18 «Вода очищенная», если нет других указаний.

**Стерилизация.** Процедура стерилизации (метод и условия) должна быть валидирована для каждого наименования среды, расфасованной в соответствующий контейнер (пробирки, флаконы), должна гарантировать стерильность и не должна оказывать негативного влияния на способность среды стимулировать рост микроорганизмов.

Предпочтительным способом стерилизации питательных сред является автоклавирование (стерилизация насыщенным паром), режим (температура и продолжительность) которого зависит от состава и объема среды в первичной упаковке, а также степени загрузки автоклава.

Для некоторых сред, содержащих, например, термолabile компоненты, используют кипячение или стерилизующую фильтрацию (0,2 мкм). Компоненты неустойчивые к нагреванию рекомендуется добавлять после охлаждения стерильной среды до температуры ниже 50 °С. Агаризованные среды охлаждают до температуры (45–50) °С и разливают в стерильные емкости, соблюдая правила асептики. Питательные среды распределяют равномерно по дну в чашки Петри, не допуская пузырьков воздуха. Толщина слоя должна быть не менее 3 мм.

Плавление плотных готовых ПС проводят в кипящей водяной бане или текучим паром в автоклаве (100 °С). Продолжительность плавления среды во флаконах не должна превышать 1 ч.

Среды, предназначенные для культивирования/выявления анаэробов перед использованием, как правило, следует регенерировать.

Регенерацию, а также плавление среды можно проводить только один раз.

**Контроль качества.** Испытанию подлежит каждая серия сухой или готовой к применению коммерческой ПС, а также каждая партия среды, изготовленная в лаборатории из сухого препарата или из компонентов. Качество ПС подтверждают с помощью совокупности показателей, выбранных в соответствии с ее назначением, и включает оценку по физико-химическим и биологическим показателям.

В случае если процедура приготовления среды валидирована, для сухой коммерческой среды возможна проверка соответствия специфических свойств выборочно или однократно для вновь полученной серии.

Серию сухой ПС оценивают визуально на соответствие внешнего вида (порошок, гранулы, пластины, чешуйки и их цвет) и отсутствие мешающих факторов (при необходимости).

Серию или партию готовой к применению ПС, в том числе промышленного производства, имеющей заключение о качестве (сертификат, паспорт), оценивают на соответствие внешнего вида (физическое со-

стояние, прозрачность, цветность), рН (при наличии указания в Инструкции по применению), стерильности, специфическим свойствам (ростовые, дифференцирующие, ингибирующие или др.) и иным значимым показателям<sup>1</sup>.

**Прозрачность.** Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость или гель. Определение проводят визуально в проходящем свете в соответствии с ОФС.1.2.1.0007.15 «Прозрачность и степень мутности жидкости».

**Отсутствие мешающих факторов.** Испытание проводят при входном контроле сред, предназначенных для оценки живых бактериальных вакцин по показателю «Отсутствие посторонних бактерий и грибов», на основании результатов микроскопии. Для определения используют окрашенные по Граму мазки готовой к применению среды. Наблюдаемая микроскопическая картина не должна влиять на последующую интерпретацию результатов оценки качества вакцины и используется как отрицательный контроль.

**рН.** Определение проводят потенциометрическим методом в соответствии с ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия». Для жидких сред – непосредственно в растворе (без разведения); для агаризованных (плотных) сред – в расплавленном и охлажденном виде до температуры (45–50) °С.

При необходимости перед стерилизацией устанавливают рН до требуемого значения с помощью растворов 1 М натрия гидроксида или 1 М хлористоводородной кислоты. Для регулирования рН среды после стерилизации используют стерильные растворы.

*Примечание.* Оценка величины значения рН необходимо проводить с учетом возможного влияния последующей стерилизации.

**Аминный азот<sup>2</sup>.** Определение проводят методом формольного титрования в соответствии с ОФС.1.2.3.0022.15 «Определение аминного азота методом формольного и йодометрического титрования».

**Хлориды<sup>3</sup>.** Определение проводят методом обратного осадительного титрования в соответствии с ОФС.1.7.2.0030.15 «Количественное определение хлоридов методом обратного осадительного титрования в биологических лекарственных препаратах».

**Стерильность.** ПС готовые к применению должны быть стерильными. После стерилизации (или розлива стерильной среды в другие емкости) образцы питательных сред в количестве, определенном в со-

<sup>1</sup> Серия готовой к применению среды промышленного производства может быть признана пригодной для испытания на основании результатов оценки рисков для качества, связанных с надежностью производителя и поставщика.

<sup>2</sup> Дополнительные показатели для оценки качества сред приготовленных из отдельных компонентов.

<sup>3</sup> Так же. Дополнительные показатели для оценки качества сред приготовленных из отдельных компонентов.

ответствии с требованиями ОФС.1.1.0004.15 «Отбор проб»<sup>1</sup>, инкубируют при оптимальной для данной среды температуре в течение не менее 14 сут. Рост микроорганизмов должен отсутствовать. Обнаружение в жидкой среде помутнения или образование колоний на плотной среде свидетельствует о несоответствии требованиям испытания.

**Специфические биологические свойства** (чувствительность, ростовые свойства, эффективность, дифференцирующие, ингибирующие, нейтрализующие свойства, скорость роста). Требования, предъявляемые к наличию соответствующих свойств, определяются назначением ПС. Конкретные требования к специфическим свойствам сред, используемых в фармакопейных методах, приводятся в соответствующей статье.

**Ростовые свойства.** Готовую среду засевают культурой (тест-штаблом) микроорганизма (целевого), для выявления которого приготовлена среда и/или для гетерологичных (относящихся к разным видам) штаммов и визуально (или под малым увеличением) исследуют характер их роста. Набор тест-штаблов, необходимый для контроля качества ПС, определяется ее назначением. Не более 100 КОЕ каждого тест-штабма инкубируют в отдельном контейнере с испытуемой средой в соответствии с требуемыми условиями (температура, аэрация). ПС пригодна для использования, если в течение времени инкубации в среде выявляют рост микроорганизмов, при этом рост целевых тест-штаблов должен быть типичным (форма, цвет, размер колоний и др.); рост нецелевых – частично или полностью подавлен. Ингибирующие, накопительные или задерживающие рост свойства оценивают по изменению количества колоний, выросших на тестируемой и контрольной (среда для культивирования) среде.

**Скорость роста культуры.** Определяют по минимальному времени, за которое на чашках Петри (пробирках) с плотной средой происходит образование типичных, легко дифференцируемых колоний или обнаруживается видимый невооруженным глазом рост микроорганизма (помутнение, образование осадка, пленки, рост на скосе и др.) во всех засеянных контейнерах с жидкими (полужидкими) питательными средами.

**Чувствительность среды.** Устанавливают по максимальному разведению культуры, при котором рост обнаруживается во всех засеянных контейнерах.

**Эффективность среды.** Определяют для сред накопления, рассчитывая после соответствующей инкубации с учетом разведения выход клеток с 1 мл

среды или прирост числа клеток относительно засеянного количества.

**Показатель стабильности основных биологических свойств культивируемых микроорганизмов (культур клеток).** Устанавливают по соотношению числа атипичных по морфологии, биохимическим и др. свойствам колоний к общему их числу в контейнерах с испытуемой средой (в %).

**Дифференцирующие свойства.** Определяют для дифференциальных сред и сред для идентификации по выраженности отличительных признаков патогенных микроорганизмов от непатогенных видов и естественных ассоциантов (по окраске, структурным особенностям колоний, изменению цвета и др.).

**Ингибирующие свойства.** Определяют по способности среды подавлять сопутствующую микрофлору. Показатель ингибирующих свойств выражают в виде минимального разведения культуры при посеве, из которого на испытуемой среде полностью отсутствует рост и (или) проявление типичных свойств посторонней микрофлоры или в виде величины отношения среднего числа колоний тест-штабма на среде выращивания к среднему числу колоний на испытуемой среде с учетом разведения.

**Нейтрализующие свойства.** Определяют по способности ПС нейтрализовать действие консервантов (например, ртутных), т.е. обеспечивать 100 % прорастание засеянной культуры. Присутствие консерванта не должно влиять на чувствительность среды в отношении тестовых штаммов.

**Штаммы.** Используют штаммы, полученные из специализированных коллекций, типичные по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам. Число пассажей рабочей культуры, используемой для проведения испытания ПС, не должно превышать пяти.

Для выявления специфической контаминации ЛС, представляющей высокий риск заражения конечного продукта, при оценке качества ПС необходимо использовать дополнительные тестовые штаммы (микоплазмы, риккетсии). Возможно использование свежeweделенных культур, контаминирующих сырье и материалы биологического происхождения.

**Проверка пригодности.** При проведении оценки пригодности методики испытания ЛС фармакопейным или альтернативным методами для исключения получения ложноположительного результата дополнительно проводят проверку пригодности ПС для испытания конкретного препарата (отсутствие отрицательного влияния ПС на природу препарата).

Необходимое количество ЛС при осторожном перемешивании вносят в пробирку с ПС. При наблюдении испытуемой смеси в проходящем свете видимые изменения физических свойств ЛС должны отсутствовать (образование хлопьев, осадка).

<sup>1</sup> Объем выборки может быть изменен при условии оценки рисков гарантирующих надежность методики. Стерильность также может быть гарантирована валидированным процессом стерилизации.

При проведении анализа качества ЛС замена питательных сред/ингредиентов/добавок, а также использование для подтверждения свойств питательных сред тест-штаммов, неуказанных в фармакопейном методе (методике), должна быть обоснована и подтверждена пригодность их использования в той же или в более высокой степени.

**Производственные питательные среды.** ПС, используемые в процессе производства биологических лекарственных препаратов должны отвечать требованиям эффективности (продуктивности) и безопасности.

Для предотвращения контаминации необходимо принимать меры по выявлению инактивации и удалению посторонних агентов как в исходных материалах в рамках входного контроля, так и на этапах производства.

Поскольку источником контаминации конечного продукта могут являться входящие в состав ПС сырье и материалы животного происхождения (сыворотка крови, экстракты), в процессе производства ЛС, а также для поддержания роста клеток при размножении вируса, рекомендуется использовать среды, не содержащие сыворотку крови и антибиотики.

Испытания и оценку рисков в отношении безопасности производственных ПС проводят в соответствии с ОФС.1.2.4.0003.15 «Стерильность», ОФС.1.7.2.0031.15 «Испытание на присутствие микоплазм», ОФС.1.2.4.0015.18 «Вирусная безопасность».

Содержание компонентов ПС в готовом препарате, которые могут вызвать нежелательные реакции у людей, должно быть ниже уровня, гарантирующего безопасность для человека.

**Хранение и утилизация.** Среда, приготовленные в лаборатории, хранят в надлежащих условиях (температура, влажность, защита от света), в течение срока, подтвержденного в ходе валидационных испытаний физических, химических и биологических свойств. Испытание проводят для каждого наименования среды, расфасованной в соответствующий контейнер (чашки, пробирки, флаконы). Среда не используют по истечении валидированных сроков хранения.

Коммерческие ПС хранят в строгом соответствии с инструкцией по применению при условии сохранения их качества в течение срока годности.

Утилизация неиспользованных сред и сред с истекшим сроком годности производится в соответствии с требованиями, предусмотренными для продукции соответствующего класса опасности (как правило, не выше 2а).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработан проект новой общей фармакопейной статьи «Питательные среды», определяющий требования к питательным средам, применяемым для ана-

лиза качества и безопасности лекарственных средств. Предложен комплексный подход к критериям выбора перечня показателей, необходимых для подтверждения пригодности ПС и описаны основные методы их оценки. Определены критически значимые этапы подготовки, применения и хранения ПС. Введение ОФС «Питательные среды» в практику отечественного фармакопейного анализа позволит повысить достоверность результатов оценки эффективности и безопасности лекарственных средств, и как следствие приведет к снижению производственных рисков и рисков причинения вреда здоровью пациентов при фармакотерапии и иммунопрофилактике. Предложенные подходы также могут быть использованы в других отраслях науки и производства.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Суханова С. М., Захарова Н. Е. Питательные среды в фармакопейном анализе: применение, действующие требования, вопросы стандартизации. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019;19(3):136–144. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-3-136-144.
2. Береговых В. В., ред. Управление риском для качества Q 9. В кн.: Руководства ИСН для фармацевтической отрасли. Качество. СПб.: ЦОП «Профессия». 2017. С. 672–695.
3. Никитченко В. Е., Рысцова Е. О., Чернышева А. Н. Анализ и предупреждение рисков при изготовлении лабораторных микробиологических питательных сред методом FMEA. *Вестник Российского университета дружбы народов. Вестник РУДН. Серия: Агрономия и животноводство*. 2019;14(1):90–98. DOI: 10.22363/2312-797X-2019-14-1-90-98.
4. Меньшиков В. В., Козлов Р. С., Поляк М. С., Михайлова В. С., Иноземцева Л. О., Шуляк Б. Ф., Стецюк О. У., Кречикова О. И., Шепелин А. П., Суханова С. М. Внутрилабораторный контроль качества питательных сред для клинических микробиологических исследований. М.: Федерация лабораторной медицины; 2014. 42 с.
5. Федорова О. В., Понкратова С. А., Валеева Р. Т., Исламгулов И. Р. Питательные среды в производствах медицинских и ветеринарных препаратов. *Вестник технологического университета*. 2017;20(4):130–133.
6. Кулешова С. И., Процак С. А., Лисунова С. А., Романюк Г. Ю. Стабильность готовых и приготовленных в лаборатории питательных сред. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения*. 2021;11(2):130–134. DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-2-130-134.
7. Шепелин А. П. Сравнительная оценка качества основных питательных сред отечественного и импортного производства. *Астраханский медицинский журнал*. 2013;8(1):321–326.
8. Gebo J. E. T., East A. D., Lau A. F. Side-by-side comparison of clinical versus current good manufacturing practices (cGMP) microbiology laboratory requirements for sterility testing of cellular and gene therapy products. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2021;43(21):181–191. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2021.10.001.
9. Krisher K., Callihan D. R., Jones R. N., Luper D. C., Miller J. M., Sharp S. E., Shively R. G. Quality control for commercially prepared microbiological culture media. 3rd ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. 13 p.
10. Gordon O., Berchtold M., Staerk A., Roesti D. Comparison of Different Incubation Conditions for Microbiological Environmental Monitoring. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology September*. 2014;68(5):394–406. DOI: 10.5731/pdajpst.2014.00994.

11. Hassan K. M., Njogu P. M., Njuguna N. M., Ndwigah S. N. Microbiological contamination of herbal medicinal products marketed in Kenya for chronic diseases: A case study of Nairobi metropolis. *Journal of Herbal Medicine*. 2021;29:100475. DOI: 10.1016/j.hermed.2021.100475.

## REFERENCES

1. Sukhanova S. M., Zakharova N. E. Culture media for pharmacopoeial analysis: use, current requirements, standardization. *BIO-preparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie*. 2019;19(3):136–144. (In Russ.) DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-3-136-144.
2. Beregovykh V. V., editor. Quality risk management Q 9. In: ICH Guidelines for the Pharmaceutical Industry. Kaquality. Saint Petersburg: TsOP "Professiya". 2017. P. 672–695. (In Russ.)
3. Nikitchenko V. E., Rystsova E. O., Chernysheva A. N. Analysis and prevention of risks in the manufacture of laboratory microbiological nutrient media by FMEA method. *Vestnik Rossiyskogo universiteta družby narodov. Seriya: Agronomiya i zhivotnovodstv*. 2019;14(1):90–98. (In Russ.) DOI: 10.22363/2312-797X-2019-14-1-90-98.
4. Men'shikov V. V., Kozlov R. S., Poljak M. S., Mihajlova V. S., Inozemceva L. O., Shuljak B. F., Stecjuk O. U., Krechikova O. I., Shepelin A. P., Suhanova S. M. In-laboratory quality control of nutrient media for clinical microbiological studies. Moscow: Federacija laboratornoj mediciny; 2014. 42 p. (In Russ.)
5. Fedorova O. V., Ponkratova S. A., Valeeva R. T., Islamgulov I. R. Nutrient media in the production of medical and veterinary drugs. *Vestnik tehnologicheskogo universiteta*. 2017;20(4):130–133. (In Russ.)
6. Kuleshova S. I., Protsak S. A., Lisunova S. A., Romanyuk G. Yu. Stability of ready-to-use and laboratory-prepared culture media. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*. 2021;11(2):130–134. (In Russ.) DOI: 10.30895/1991-2919-2021-11-2-130-134.
7. Shepelin A. P. Comparative assessment of the quality of the main nutrient media of domestic and imported production. *Astrahanskij medicinskij zhurnal*. 2013;8(1):321–326. (In Russ.)
8. Gebo J. E. T., East A. D., Lau A. F. Side-by-side comparison of clinical versus current good manufacturing practices (cGMP) microbiology laboratory requirements for sterility testing of cellular and gene therapy products. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2021;43(21):181–191. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2021.10.001.
9. Krisher K., Callihan D. R., Jones R. N., Luper D. C., Miller J. M., Sharp S. E., Shively R. G. Quality control for commercially prepared microbiological culture media. 3rd ed. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2004. 13 p.
10. Gordon O., Berchtold M., Staerk A., Roesti D. Comparison of Different Incubation Conditions for Microbiological Environmental Monitoring. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology September*. 2014;68(5):394–406. DOI: 10.5731/pdajpst.2014.00994.
11. Hassan K. M., Njogu P. M., Njuguna N. M., Ndwigah S. N. Microbiological contamination of herbal medicinal products marketed in Kenya for chronic diseases: A case study of Nairobi metropolis. *Journal of Herbal Medicine*. 2021;29:100475. DOI: 10.1016/j.hermed.2021.100475.