

# Турбидиметрический метод в определении биологической активности антибиотиков группы аминогликозидов

Е.Н. Семенова, С.И. Кулешова, А.И. Лутцева, Е.И. Саканян

Научный центр экспертизы средств медицинского применения  
Министерства здравоохранения Российской Федерации;  
Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Семенова Екатерина Николаевна** – эксперт 1 категории лаборатории антибиотиков Научного центра экспертизы средств медицинского применения (НЦЭСМП) Министерства здравоохранения Российской Федерации. Тел.: +7 (926) 318-67-50. [SemenovaEN@expmed.ru](mailto:SemenovaEN@expmed.ru)

**Кулешова Светлана Ивановна** – начальник лаборатории антибиотиков НЦЭСМП Министерства здравоохранения Российской Федерации, кандидат биологических наук. Тел.: +7 (499) 190-18-18. [Kuleshova@expmed.ru](mailto:Kuleshova@expmed.ru)

**Лутцева Анна Ивановна** – начальник Испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств, кандидат фармацевтических наук, старший научный сотрудник. Тел.: +7 (499) 190-18-18. [Lutceva@expmed.ru](mailto:Lutceva@expmed.ru)

**Саканян Елена Ивановна** – директор Центра фармакопеи и международного сотрудничества НЦЭСМП Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор фармацевтических наук, профессор. Тел.: +7 (499) 190-18-18. [Sakanjan@expmed.ru](mailto:Sakanjan@expmed.ru)

## РЕЗЮМЕ

**Введение.** Антибиотики – наиболее широко применяемая группа лекарственных средств (ЛС). Поэтому стандартизация и последующий контроль качества ЛС группы антибиотиков приобретают особую актуальность.

**Цель исследования** – разработка турбидиметрического метода количественного определения неомидина сульфата в лекарственных препаратах, применяемых на территории Российской Федерации.

**Материал и методы.** Растворы с концентрацией неомидина сульфата в диапазоне от 1,5 до 3,66 МЕ/мл оценивали, используя экспериментальную питательную среду, инокулированную *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P в количестве 2% после 4,5 ч инкубации.

**Результаты.** Проведена валидация турбидиметрической методики определения биологической активности аминогликозидного антибиотика неомидина сульфат по показателям: линейность, прецизионность, правильность, устойчивость, специфичность.

**Заключение.** Результаты валидационных испытаний методики количественного определения неомидина сульфата доказывают возможность применения метода турбидиметрии при определении биологической активности аминогликозидных антибиотиков в научно-исследовательских, контрольно-аналитических лабораториях и на предприятиях. Разработанная методика позволяет значительно сократить время проведения анализа.

**Ключевые слова:** аминогликозидный антибиотик, количественное определение, турбидиметрический метод, стандартизация, оценка качества.

**Для цитирования:** Семенова Е.Н., Кулешова С.И., Лутцева А.И., Саканян Е.И. Турбидиметрический метод в определении биологической активности антибиотиков группы аминогликозидов. Фармация, 2019; 68 (5): 44–50. <https://doi.org/10.29296/25419218-2019-05-08>

## TURBIDIMETRIC METHOD IN DETERMINING THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF AMINOGLYCOSIDE ANTIBIOTICS

E.N. Semenova, S.I. Kuleshova, A.I. Lutseva, E.I. Sakanyan

Research Center for Examination of Medical Products, Ministry of Health of the Russian Federation, 8, Petrovsky Boulevard, Build. 2, Moscow 127051, Russian Federation

## INFORMATION ABOUT THE AUTHOS

**Ekaterina N. Semenova** – 1<sup>st</sup> professional category expert of the Laboratory of Antibiotics of the «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation (SCEEMP) of the Ministry of Health of Russia. Tel.: +7 (926) 318-67-50. [SemenovaEN@expmed.ru](mailto:SemenovaEN@expmed.ru)

**Svetlana I. Kuleshova** – head of the Laboratory of Antibiotics «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, candidate of Biological Sciences. Tel.: +7 (499) 190-18-18. [Kuleshova@expmed.ru](mailto:Kuleshova@expmed.ru)

**Anna I. Lutseva** – head of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Products' Quality «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, candidate of Pharmaceutical Sciences. Tel.: +7 (499) 190-18-18. Lutseva@expmed.ru

**Elena I. Sakanyan** – director of the Centre of Pharmacopoeia and International Collaboration «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor. Tel.: +7 (499) 190-18-18. Sakanjan@expmed.ru

#### SUMMARY

**Introduction.** Antibiotics are the most widely used group of drugs. Therefore, the standardization and subsequent quality control of drugs in the antibiotic group are of particular relevance.

**Objective:** to develop a turbidimetric method to quantify neomycin sulfate in the medicines used in the Russian Federation.

**Material and methods.** Solutions of neomycin sulfate concentration in the range of 1.5 to 3.66 IU/ml were assessed using the experimental nutrient medium inoculated with *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P in an amount of 2% after 4.5-hour incubation.

**Results.** The turbidimetric procedure for determining the biological activity of the aminoglycoside antibiotic neomycin sulfate was validated according to the following parameters: linearity, precision, accuracy, stability, and specificity.

**Conclusion.** The results of validation tests of the procedure for the quantification of neomycin sulfate provide evidence that the turbidimetric method can determine the biological activity of aminoglycoside antibiotics in research and analytical laboratories and at enterprises. The developed procedure can significantly reduce the time of analysis.

**Key words:** aminoglycoside antibiotic, quantitative determination, turbidimetric method, standardization, quality assessment.

**For citation:** Semenova E.N., Kuleshova S.I., Lutseva A.I., Sakanyan E.I. Turbidimetric method in determining the biological activity of aminoglycoside antibiotics. *Farmatsiya (Pharmacy)*, 2019; 68 (5): 44–50. <https://doi.org/10/29296/25419218-2019-05-08>

#### Введение

Антибиотики – одна из наиболее широко востребованных групп лекарственных средств (ЛС). В большинстве развитых стран они занимают ведущее место по объему потребления. Сегмент рынка ЛС антибиотиков в разных странах составляет 6–21% от всего фармацевтического рынка. В настоящее время производство антибиотиков – мощная, хорошо развитая отрасль фармацевтической промышленности. По данным Государственного реестра лекарственных средств, на начало 2018 г. в Российской Федерации (РФ) зарегистрировано более 1000 лекарственных препаратов (ЛП), относящихся к группе антибиотиков [1, 2].

Современное промышленное получение антибиотиков – сложный многоступенчатый биотехнологический процесс, состоящий из таких последовательных этапов, как получение высокопродуктивных штаммов-продуцентов, разработка наиболее благоприятных условий культивирования продуцента антибиотика с максимальным биосинтезом этого вещества, выделение и очистка антибиотика, создание готовых ЛП, а также подбор и внедрение в практику современных методов контроля их качества [2].

К антибактериальным ЛП, используемым в медицинской практике, в соответствии с Государственной фармакопеей РФ предъявляются очень строгие требования. ЛП на основе антибиотиков подвергаются тщательному биологическому и фармакологическому контролю [3]. Согласно данным отечественных и зарубежных изданий, получение ненадежных значений такого показателя качества антибиотиков, как количественное содержание активного компонента в препарате, определяю-

щего его терапевтическую эффективность, может привести к хронизации заболеваний, росту инвалидизации и смертности, к формированию высокорезистентных штаммов микроорганизмов, а также к серьезным финансовым потерям фармацевтической промышленности. Методы, используемые для количественного анализа, их специфичность, чувствительность, воспроизводимость и т.д. постоянно совершенствуются и модифицируются, так как от их правильного выбора зависит в дальнейшем и качество ЛС [1, 4].

Аминогликозидные антибиотики относятся к числу наиболее эффективных и часто назначаемых ЛП для лечения инфекционных болезней из-за широкого спектра их действия. В этой группе антибиотиков наиболее востребован неомицин, вследствие сохранения чувствительности к нему большинства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. На сегодняшний день в РФ зарегистрировано более 40 ЛП отечественного и зарубежного производства на основе неомицина сульфата в различных лекарственных формах (крем, мазь, порошок, капли глазные и ушные, капсулы, таблетки и суппозитории вагинальные, спрей и аэрозоль для наружного применения). Неомицин высокоэффективен при местном лечении раневой инфекции, вызываемой стафилококками, кишечной палочкой, а также ассоциациями этих микроорганизмов. Его комбинации с другими препаратами успешно применяют в отоларингологии, офтальмологии, гинекологической практике, при лечении бронхо-легочных заболеваний и инфекций желудочно-кишечного тракта. Его существенным преимуществом является активность в отношении особо опасных ин-

фекций, таких как сибирская язва, холера и др. [5].

Анализ отечественных и зарубежных монографий, регламентирующих качество ЛС антибиотиков, показал, что в настоящее время для оценки содержания действующего вещества в ЛС на основе антибиотиков группы аминогликозидов предпочтение отдается микробиологическому анализу. Широкое использование микробиологических методов обусловлено в том числе и особенностями химического строения аминогликозидных антибиотиков, которые не обладают флюоресценцией и не поглощают в ультрафиолетовой области, что в свою очередь затрудняет развитие физико-химических методов анализа.

Микробиологический метод определения активности антибиотиков на производстве используют: при проверке качества посевного материала продуцента антибиотика (т.е. устанавливают его способность образовывать антибиотик в достаточном количестве); при расчете уровня накопления антибиотика в культуральной жидкости и количества антибиотика в нативном растворе на различных стадиях выделения и очистки; при определении биологической активности антибиотика в готовой лекарственной форме [3].

На сегодняшний день ведущими мировыми фармакопееми для определения антимикробной активности антибиотиков группы аминогликозидов рекомендуются такие методы биологического тестирования, как метод диффузии в агар и турбидиметрический метод. В отечественной фармакопейной практике применяется только метод диффузии в агар [1, 6]. Он основан на способности молекул антибиотиков диффундировать в агаровых средах и образовывать зоны угнетения, в которых не развиваются тест-микроорганизмы, чувствительные к испытуемому антибиотику. Метод диффузии в агар прост, не нуждается в сложном оборудовании, обеспечивает удовлетворительную чувствительность и селективность, однако он имеет ряд недостатков: длительность проведения анализа; зависимость аналитического сигнала от свойств антибиотика (его растворимости, молекулярной массы и т.п.), не связанных с его активностью; чувствительность тест-культур к качеству используемого агара; сложность автоматизации и др. [7, 8]. Метод турбидиметрии, наряду с другими положительными сторонами, отличается оперативностью и экономичностью.

Цель работы – разработка турбидиметрической методики количественного определения неомидина сульфата в ЛП, применяемых на территории Российской Федерации.

## Материал и методы

Исследования были выполнены на препарате «Анауран, капли ушные» (Италия). Использовали стандартный образец (СО) неомидина сульфат – NS EPCRS (активность – 19200 IU/vial, batch 5, действительный на момент исследования). Для приготовления основных растворов стандартного и испытуемого образцов применяли воду очищенную, полученную на установке «Millipore», рабочие растворы готовили с буфером № 4 (ОФС.1.2.4.0010.15 «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар») [6]. Для разработки методики использовали химические реактивы отечественного и импортного производства с квалификацией не ниже «х.ч.».

В работе применяли следующие штаммы микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (для турбидиметрического анализа); *Bacillus cereus*, var. *Mycooides* 537 (для метода диффузии в агар), полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов НЦЭСМП. При проведении турбидиметрического анализа применяли среду для антибиотиков № 3, производства HiMedia Laboratories Pvt. Limited (Индия), а также экспериментальную питательную среду (ЭПС), содержащую компоненты отечественного производства: панкреатический гидролизат казеина (ПГК) (ТУ 9229-240-78095326-2016); гидролизат мяса ферментативный (ГМФ) (ФСП 42-0487-4245-03); экстракт кормовых дрожжей (ТУ 9385-090-14237183-08) и D-глюкоза (ГОСТ 6038-79) [9]. pH используемых сред составлял  $7,2 \pm 0,2$ . Биологическую активность методом диффузии в агар определяли по ОФС.1.2.4.0010.15 «Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар» [6].

Для определения антимикробной активности турбидиметрическим методом штаммы тест-микроорганизмов инкубировали в ЭПС при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 24 ч. В день испытания бульонную культуру разбавляли для достижения мутности суспензии  $25 \pm 2\%$  (коэффициент пропускания) с помощью спектрофотометра Agilent 8453 (США) при длине волны 580 нм. Полученная суспензия служила посевным материалом. Для турбидиметрического анализа была выбрана трехдозная модель параллельных линий ( $3 \times 3$  дизайн; 3 дозы стандарта и 3 дозы образца). Первоначально соответствующий объем ЭПС инокулировали в количестве 2,0%. Затем 9 мл инокулированной среды и 1 мл испытуемого или

стандартного раствора (при концентрации 1,5; 2,34 и 3,66 МЕ/мл) вносили в пробирку объемом 20 мл. После этого анализируемые смеси инкубировали при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 4,5 ч. Одновременно инкубировали отрицательный контроль (9 мл стерильной ЭПС и 1 мл буфера № 4) и положительный контроль (9 мл инокулированной ЭПС и 1 мл буфера № 4). По завершении процесса инкубации размножение микроорганизмов останавливали, добавляя 0,5 мл 12% раствора формальдегида в каждую пробирку, в том числе для положительного и отрицательного контроля. Оптическую плотность бактериальной популяции в пробирках с испытуемым и стандартным образцами, а также в контрольных пробирках определяли при длине волны 530 нм.

Расчет биологической активности антибиотиков, математическую и статистическую обработку результатов осуществляли в соответствии с существующими рекомендациями [6] с помощью программных обеспечений Microsoft Office Excel и CombiStats, version 5.0. После установления оптимальных условий проведения турбидиметрического анализа проводили валидацию методики путем определения таких параметров, как линейность, правильность, прецизионность, устойчивость и специфичность [6, 10].

### Результаты и обсуждение

Определение антимикробной активности антибиотиков основано на их способности угнетать рост микроорганизмов. Принцип турбидиметрического метода заключается в логарифмической зависимости степени угнетения роста бактериальной популяции в жидкой питательной среде от концентрации антибиотика. О задержке роста микроорганизмов судят по величине мутности среды, которая может быть фотометрически измерена после инкубации. Поэтому для турбидиметрического биотестирования особенно важен выбор тест-микроорганизма, восприимчивого к используемому антибиотику, обеспечивая также достаточно интенсивный и равномерный рост в жидкой питательной среде. Из изученных тест-микроорганизмов выбрали штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, который характеризовался чувствительностью к неомицину, сравнительно невысокими ростовыми потребностями, а также в ходе проведенных многофакторных исследований давал более быстрый рост в отличие от штамма *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. Последнее может быть связано с более длительной лаг-фазой *St. epidermidis* ATCC 12228, так как он метаболиче-

ски менее активен и, по всей видимости, имеет небольшой арсенал адаптационных механизмов к изменяющимся условиям среды по сравнению с *St. aureus* ATCC 6538P [11].

Кроме того, время, затраченное на проведение турбидиметрического анализа, напрямую связано с временем, необходимым для визуализации микробного роста. При таком подходе оптимизация времени инкубации может быть достигнута благодаря использованию богатой питательной среды, которая обеспечивает быстрый микробный рост. Учитывая это условие, на следующем этапе исследований тщательно выбирали питательную среду. В качестве сред сравнения использовали ЭПС [9], содержащую компоненты отечественного производства, и среду для антибиотиков № 3 производства HiMedia Laboratories Pvt. Limited. Пропись данной среды полностью соответствует таковой среды № 3, рекомендованной для турбидиметрического анализа USP и Ind. Ph. [12, 13].

Как показали проведенные эксперименты, обе исследуемые среды сопоставимы по результатам тестирования с *St. aureus* ATCC 6538P. Питательные среды обеспечивали стабильность основных биологических свойств тест-микроорганизма (рост в виде равномерного помутнения бульона без образования пленки и осадка на дне при посевах из разведения 10<sup>-7</sup>) [9]. Так как ЭПС содержит в своем составе только отечественные компоненты и более доступна, для дальнейших испытаний была выбрана именно ЭПС.

Взаимодействие между тест-микроорганизмом и антибиотиком при определении антимикробной активности антибактериальных препаратов выражается в логарифмической зависимости степени угнетения роста бактериальной популяции от концентрации антибиотика, которая должна быть линейной. Линейный отклик обычно происходит в ограниченном диапазоне концентраций антибиотика и определенной фазе роста тест-микроорганизма (фаза логарифмического роста). Именно в логарифмической фазе роста микроорганизмы проявляют наибольшую чувствительность к внешним факторам окружающей среды, в том числе и к действию антибиотиков, следовательно, в этот период развития бактериальной популяции можно получить наилучшие результаты (с точки зрения чувствительности и линейности) при определении биологической активности антибиотиков. Это было подтверждено в ходе наших исследований, оптимальный период инкубации тест-штамма составил 4 ч 30 мин.

Таким образом, в ходе проведения предварительных испытаний и стандартизации параметров для количественного определения неомидина сульфата турбидиметрическим методом были выбраны оптимальные условия проведения анализа (табл. 1).

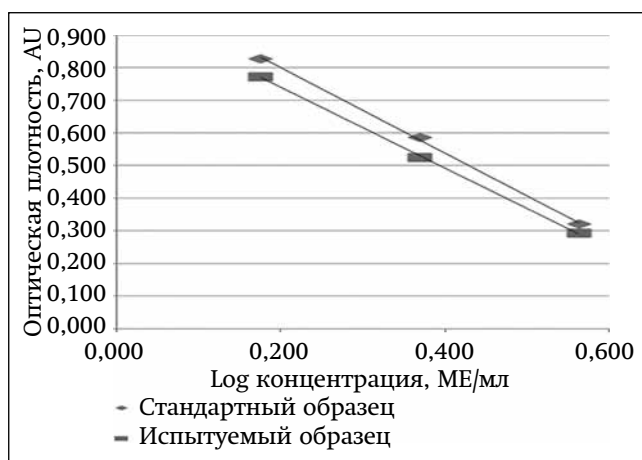
Таблица 1

**Оптимальные условия количественного определения неомидина турбидиметрическим методом**

Table 1

**Optimal conditions for quantifying neomycin by turbidimetric method**

Параметр	Проанализированные условия	Выбранные условия
Тест-микроорганизм	<i>St. aureus</i> ATCC 6538P; <i>St. epidermidis</i> ATCC 12228	<i>St. aureus</i> ATCC 6538P
Питательная среда	Среда для антибиотиков №3 HiMedia; ЭПС	ЭПС
Диапазон концентраций антибиотика, МЕ/мл	0,5; 1; 2 1,5; 2,34; 3,66 1; 2; 4	1,5; 2,34; 3,66
Время инкубации, ч	3,5; 4,5; 5,5	4,5



**Рис. 1.** Зависимость оптической плотности бактериальной популяции от концентрации неомидина.

**Примечание:** \*уравнения линейной регрессии и значения коэффициентов детерминации:  $y = -1,3075x + 1,061$ ;  $R^2 = 0,9993$  для стандартного образца;  $y = -1,2339x + 0,9857$ ;  $R^2 = 0,9996$  для испытуемого образца

**Fig. 1.** Relationship of the optical density of the bacterial population to the concentration of neomycin.

**Note:** \*linear regression equations and coefficients of determination:  $y = -1.3075x + 1.061$ ;  $R^2 = 0.9993$  for the standard sample;  $y = -1.2339x + 0.9857$ ;  $R^2 = 0.9996$  for the test sample

Выбранная нами трехдозная модель параллельных линий предполагает, что взаимосвязь между логарифмом доз и оптической плотностью бактериальной популяции должна быть представлена в виде прямой линии во всем диапазоне исследованных концентраций; прямая линия испытуемого образца должна быть параллельна соответствующей прямой линии стандартного образца [6, 14]. Результаты анализов свидетельствуют, что при увеличении концентрации антибиотика (в пределах выбранного диапазона концентраций) ингибирующее действие его на микробную популяцию возрастает, и, следовательно, уменьшается оптическая плотность бактериальной популяции, что приводит к линейному отклику в зависимости от логарифма исследуемых концентраций (см. рисунок).

Проведенный дисперсионный анализ подтвердил правильность полученных данных: значительную регрессию ( $p < 0,01$ ), характеризующую статистическую значимость дозозависимости, параллельность 2 линий регрессии («Параллельность»), линейность дозозависимости («Линейность», «Квадратичность» и «Разность квадратичностей») в соответствии с требованиями ОФС.1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами» [6] (см. табл. 2).

Для подтверждения того, что разработанная методика обеспечивает получение достоверных результатов, была проведена оценка ее основных валидационных характеристик – линейности, прецизионности, правильности, устойчивости и специфичности.

Линейность была продемонстрирована в диапазоне концентраций неомидина сульфата от 1,5 до 3,66 МЕ/мл. Зависимость оптической плотности бактериальной популяции от количества определяемого неомидина сульфата в пробе отражается в уравнениях линейной регрессии, полученных при регрессионном анализе данных методом наименьших квадратов (см. рисунок). Для характеристики прогностической силы анализируемой регрессионной модели используют коэффициент детерминации  $R^2$ , называемый также квадратом коэффициента множественной корреляции. Полученные значения  $R^2$  для стандартного образца и испытуемого образца составили 0,9993 и 0,9996 соответственно, и свидетельствовали о тесной линейной связи между зависимой и объясняющей переменными.

Прецизионность методики была оценена на 2 уровнях: повторяемость и промежуточная прецизионность. Сходимость измерялась как относи-

тельное стандартное отклонение (RSD) 6 анализируемых образцов в тот же день, в тех же условиях и составляла 1,35%. Промежуточная прецизионность была оценена с помощью анализа в течение 3 дней и составила 1,91%.

Правильность оценивали по результатам анализа модельных растворов с известными концентрациями антибиотика, приготовленными методом добавок. Средний процент восстановления составил 100,58% при RSD 1,79%, что подтверждает способность методики точно определять биологическую активность неомидина сульфата в пределах 80–120%.

Устойчивость методики определяли путем анализа образца в различных условиях (табл. 3). Установлено, что небольшие изменения таких параметров, как время инкубации и длина волны, не влияли на устойчивость методики. Вместе с тем уменьшение концентрации инокулята до 1% приводило к увеличению периода инкубации, тогда как увеличение концентрации инокулята до 3% снижало чувствительность анализа. Полученные результаты свидетельствуют о важности данного параметра и необходимости его контроля.

Специфичность методики была подтверждена статистической обработкой полученных результатов с помощью валидируемой турбидиметрической методики и фармакопейного метода диффузии в агар (табл. 4). На основании данных анализа можно сделать вывод о том, что с вероятностью 95% не существует статистически значимых различий между результатами, полученными с использованием обеих методик ( $t_{расч.} = 0,7 < t_{крит.} = 2,78$ ).

### Заключение

Таким образом, в ходе проведенных исследований разработана методика определения неомидина сульфата турбидиметрическим методом, позволяющая получать важную информацию об

Таблица 2

#### Результаты дисперсионного анализа определения биологической активности неомидина турбидиметрическим методом

Table 2

#### Results of variance analysis of determination of the biological activity of neomycin by turbidimetric method

Источник дисперсии (показатель)	Число степеней свободы	Сумма квадратов	Средний квадрат	F <sub>набл.</sub>	F <sub>критич.</sub>	
Регрессия	1	1,45386	1,45386	436,203	>8,1	p=99%
Параллельность	1	0,00121837	0,001218	0,366	<4,35	p=95%
Линейность	2	0,00080903	0,000405	0,121	<4,35	p=95%
Стандарт	1	0,00058403	0,000584	0,175	–	–
Испытуемый	1	0,000225	0,000225	0,068	–	–
Квадратичность	1	0,00004201	0,00004201	0,013	<4,35	p=95%
Разность квадратичностей	1	0,00076701	0,000767	0,23	<4,35	p=95%

Таблица 3

#### Результаты проверки устойчивости количественного определения неомидина турбидиметрическим методом

Table 3

#### Results of testing the stability of neomycin quantification by turbidimetric method

Параметр	Модифицированные условия	Нормальные условия	Устойчивость методики
Время инкубации, мин	265 275	270	Устойчива
Длина волны, нм	525 535	530	Устойчива
Концентрация инокулята, %	1 3	2	Неустойчива

Таблица 4

#### Сравнительная оценка биологических методов количественного определения неомидина

Table 4

#### Comparative assessment of biological assays of neomycin

Метод анализа	Чувствительность, МЕ/мл	Время выполнения анализа (инкубации), ч	Среднее содержание неомидина, %	RSD, %
Турбидиметрическая методика	1,5	4,5	105,2	1,9
Диффузия в агар	2	18-20	106,1	0,9

антимикробной активности ЛП. Подобраны тест-микроорганизм, питательная среда, время инкубации и диапазон концентраций антибиотика, оптимальные для проведения анализа. Статистический анализ показал, что метод диффузии в агар и турбидиметрический анализ могут считаться взаимозаменяемыми. Вместе с тем турбидиметрический метод количественного определения неомидина сульфата обладает преимуществами в отношении чувствительности, времени, затраченного на проведение анализа, и экономичности, ввиду уменьшения затрат на термостатирование. Результаты валидации методики подтверждают ее адекватность, что позволяет рекомендовать данную методику для использования в контрольно-аналитических лабораториях и на предприятиях, выпускающих ЛП на основе неомидина сульфата.

*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).*

#### **Конфликт интересов**

*Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.*

#### **Conflict of interest**

*The authors declare no conflict of interest.*

#### **Литература**

1. Семенова Е.Н., Саканян Е.И., Кулешова С.И. Сравнительная характеристика методов количественного определения, используемых при стандартизации и последующей оценке качества антибиотиков. Вестник Российской военно-медицинской академии, 2017, 59 (3), 140–6.
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004; 528.
3. Ковалева Т.А., Сливкин А.И., Беленова А.С., Суслина С.Н. Биотехнология. Воронеж: Изд-во ВГУ, 2011; 89.
4. Фаращук Н.Ф. Современные, наиболее употребляемые лабораторные методы исследования антибиотиков. Вестник Смоленской государственной медицинской академии, 2012; 11 (4): 58–63.
5. Навашин С.М., Фомина И.П., Сазыкин Ю.О. Антибиотики группы аминогликозидов. М.: Медицина, 1977; 216.
6. Государственная фармакопея Российской Федерации, XIII изд. М.: ФЭМБ, 2015.
7. Кулешова С.И. Определение активности антибиотиков методом диффузии в агар. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения, 2015; 3: 13–7.
8. Берштейн Е.М. Современные биологические методы оценки активности антибиотиков. Антибиотики и химиотерапия, 1991; 36 (6): 50–3.
9. Саканян Е.И., Семенова Е.Н., Кулешова С.И., Суханова С.М., Минаева Н.М. Разработка и оценка качества новой

питательной среды для количественного определения антибиотиков турбидиметрическим методом. Вопросы обеспечения качества лекарственных средств, 2018; 20 (2): 21–6.

10. Багирова В.Л., Гризодуб А.И., Чибилев Т.Х. и др. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности. М.: Спорт и культура, 2007; 91.
11. Колпакова С.Д., Колпакова Г.А. Исследование особенностей развития музейных и свежeweделенных из организма штаммов. Вестник СамГУ. Естественно-научная серия, 2005; 6: 184–93.
12. United States Pharmacopoeia USP 38-NF33. Rockwill, Maryland, USA, 2015; 5089.
13. Indian Pharmacopoeia. Ghaziabad: Indian Pharmacopoeia Commission, 2010; 2829.
14. Hewitt W. Microbiological assay for pharmaceutical analysis. Interharm/CRC, 2003.

#### **References**

1. Semyonova E.N., Sakanyan E.I., Kuleshova S.I. Comparing the determination methods used in standardization and quality evaluation of antibiotics. Vestnik Rossiiskoi Voenno-Medicinskoi Akademii, 2017; 59 (3), 140–6 (in Russian).
2. Egorov N.S. Fundamentals of the study of antibiotics. Moscow: MGU; Nauka, 2004, 528 (in Russian).
3. Kovaleva T.A., Slivkin A.I., Belenova A.S., Suslina S.N. Biotechnology. Voronezh: VGU, 2011; 89 (in Russian).
4. Farashchuk N.F., Tsyuman Yu.P. The most common laboratory antibiotics research methods. Vestnik Smolenskoiy Medicinskoiy Akademii, 2012; 11 (4): 58–63 (in Russian).
5. Navashin S.M., Fomina I.P., Sazykin Yu.O. Aminoglycoside antibiotics. Moscow.: Meditsina, 1977, 216 (in Russian).
6. The State Pharmacopoeia of The Russian Federation, XIII-ed. Moscow.: FEMB, 2015 (in Russian).
7. Kuleshova S.I. Testing activity of antibiotics by agar diffusion. Scientific Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya, 2015; 3: 13–7 (in Russian).
8. Bershtein E.M. Modern biological methods for assessing the activity of antibiotics. Antibiotics and Chemotherapy. 1991, 36 (6), 50–3 (in Russian).
9. Sakanyan E.I., Semyonova E.N., Kuleshova S.I. Sukhanova S.M. Development and quality evaluation of the new culture medium for assay of antibiotics by the turbidimetric method. Journal of pharmaceuticals. Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv, 2018, 20 (2), 21–6 (in Russian).
10. Bagirova V.L., Grizodub A.I., Chibilaev T.Kh. et al. Guide for enterprises of the pharmaceutical industry. Moscow.: Sport i Kultura, 2007; 91 (in Russian).
11. Kolpakova S.D., Kolpakova G.A. Investigation of development features of museum and fresh extracted from an organism shtammes. Vestnik Sam.MU. Yestestvenno-nauchnaya seriya, 2005; 6: 184–93 (in Russian).
12. United States Pharmacopoeia USP 38-NF33. Rockwill, Maryland, USA, 2015; 5089.
13. Indian Pharmacopoeia. Ghaziabad: Indian Pharmacopoeia Commission, 2010; 2829.
14. Hewitt W. Microbiological assay for pharmaceutical analysis. Interharm/CRC, 2003.

*Поступила 13 декабря 2018 г.*

*Received 13 December 2018*

*Принята к публикации 10 февраля 2019 г.*

*Accepted 10 February 2019*