

不同检定菌对乙酰螺旋霉素量—效关系的影响

裴晓华 张 玫 (江苏省药品检验所, 南京 210008)

摘要 采用二种不同检定菌(枯草芽孢杆菌、藤黄八叠球菌), 对乙酰螺旋霉素进行标准曲线回归系数(斜率)测定, 结果表明: 藤黄八叠球菌对乙酰螺旋霉素各组分的敏感度比枯草芽孢杆菌高。

关键词 乙酰螺旋霉素 标准曲线回归系数测定 枯草芽孢杆菌 藤黄八叠球菌

乙酰螺旋霉素(Acetyl spiramycin)为半合成大环内酯类抗生素, 耐酸稳定性较螺旋霉素好, 在体内脏器中分布广, 血浓度高, 且持续作用时间长, 毒性低, 用量少和治疗效果好, ASPM 已作为革兰氏阳性菌尤其是耐药金葡菌感染的疾病治疗的有效药物。在用微生物法进行含量测定时, 日本药局方采用枯草芽孢杆菌为检定菌, 而江苏省地方标准一直采用藤黄八叠球菌为检定菌, 本文对两种检定菌进行了试验比较。

1 实验仪器、试剂

1.1 仪器 SP 高效液相色谱仪(佛山公司), 泵SP 8815, 检测器 SP 100, 数据处理机 SP 4270, 柱 C_{18} 10 μ , 0—125 mm 游标卡尺(0.02 mm), CASIO FX-3600 PV 计算器, 平皿、钢管均符合中国药典1990年版规定

1.2 试剂 乙腈为光谱纯, 醋酸铵、醋酸、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾, 均为分析纯。乙酰螺旋霉素(江苏省地方标准品870301, 日本标准品05273)。

2 溶液配制

2.1 磷酸盐缓冲液、Ⅱ号(pH 7.8)培养基配制均按1990年版中国药典(附录113页)方法。

2.2 标准品溶液配制(标准曲线用) 精密称取乙酰螺旋霉素标准品约 50 mg, 置 50 ml 容量瓶中, 加乙醇溶解(每 5 mg 加乙醇 2 ml), 用 pH 7.8 磷酸盐缓冲液稀释至刻度, 摇匀。并稀释到所需各浓度。

2.3 流动相配制 0.1mol/L 醋酸铵—乙腈(40:60) pH 7.2 $\pm$ 0.1(用醋酸调 pH)。

2.4 标准品溶液配制(HPLC 用) 精密称取乙酰螺旋霉素标准品适量, 加流动相适量溶解并稀释至

1 mg/ml。

3 操作条件(标准曲线) 温度 20~25°C 半无菌室, 37°C 恒温水浴培养箱; 培养时间 16~18 h

4 检定菌

枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63501]

藤黄八叠球菌[CMCC(B)28001]

5 实验方法

5.1 取各标准品按1977年版中国药典“一剂量法(标准曲线法)”(中国药典1977年版附录83页)进行实验。标准曲线制备: 取上述乙酰螺旋霉素标准品溶液(标准曲线用), 用磷酸盐缓冲液(pH 7.8)稀释成每 1 ml 中含乙酰螺旋霉素 9.16、11.45、14.31、17.89、22.36、27.95、34.94、43.68 及 20 单位的 9 种浓度标准品稀释液, 取按抗生素微生物检定法制备的以枯草芽孢杆菌为检定菌的双碟 24 个, 将每 3 个双碟组成一组, 共 8 组, 以每 1 ml 含 20 单位的标准品稀释液作为中心浓度(C_0), 按抗生素微生物检定法“一剂量法”进行。

按同样方法操作, 改用藤黄八叠球菌为检定菌, 稀释的浓度分别为每 1 ml 含乙酰螺旋霉素 2.29、2.86、3.58、4.47、5.59、6.99、8.74、10.92 单位, 以每 1 ml 含 5 单位的标准品稀释液为中心浓度(C_0)。分别测定各抑菌圈直径、计算其回归系数(斜率)⁽¹⁾。

5.2 HPLC 照 1990 年版中国药典高效液相色谱法测定, 流速 1 ml/分进样 10 μ l。

6 结果

6.1 标准曲线测定结果见表(1)、图(1)。

6.2 高效液相测定结果见图(2)。

表一 两种检定菌测得标准曲线回归系数(斜率)及其直线性测验

检定菌	浓度范围 (r/ml)	标准曲线 校正点 (r/ml)	标准品	回 归 系 数 (斜率)	相关 系数 γ	回 归 系 数			直 线 性 测 验		
						显著性测验			二次曲线 回 归		
藤黄八叠球菌	10.92 } 2.86	5	江苏	7.5919	0.999	$t=51$	$F<1$	$F<1$			
			870301	7.6660	0.998	$t=38$	$F=2.4$	$F<1$			
		20	日本	9.6147	0.999	$t=50$	$F=2.2$	$F=1.5$			
				05273	9.5593	$t=40$	$F=3.1$	$F=1.7$			
						$P<0.01$	$P>0.05$	$P>0.05$			
枯草芽孢杆菌	43.68 } 9.16	5	江苏	5.4586	0.999	$t=50$	$F<1$	$F<1$			
			870301	5.5924	0.998	$t=39$	$F<1$	$F<1$			
		20	日本	5.4546	0.998	$t=37$	$F=1.8$	$F=1.5$			
				05273	5.2066	$t=43$	$F=2.6$	$F<1$			
						$P<0.01$	$P>0.05$	$P>0.05$			

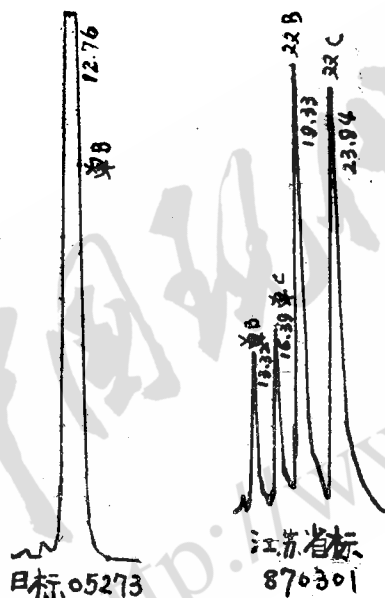


图1 两种标准品 HPLC 色谱图

7 讨论

7.1 从 HPLC 色谱图中可看出日本标准品只是单乙酰螺旋霉素 B 单一的组分, 而江苏省地方标准品是由单乙酰螺旋霉素 B、C 及双乙酰螺旋霉素 B、C 四组分的混合物。

7.2 由表(1)中数据可看出, 江苏省地方标准品 870301, 日本标准品 05273 用枯草芽孢杆菌为检定菌所得 4 条标准曲线以及用藤黄八叠球菌为检定菌所

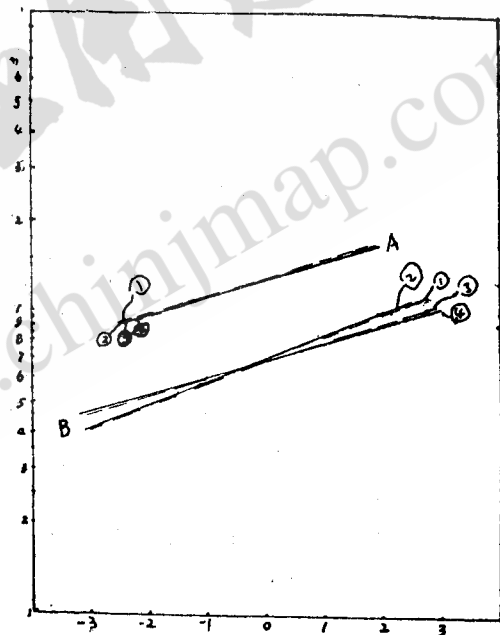


图2 两种检定菌, 两个标准品所得量一效关系图

A 为枯草芽孢杆菌 B 为藤黄八叠球菌

①②为江苏省标 870301 ③④为日标 05273

得 4 条标准曲线的直线性均符合要求⁽¹⁾。

7.3 从量一效关系图中可看出, 以枯草芽孢杆菌为检定菌时, 日本标准品的组分虽然与江苏地方标准品组分不同, 但所得标准曲线几乎重叠, 且斜率值

也较接近,无显著性差异($P > 0.05$);而用藤黄八叠球菌为检定菌时,它们的标准曲线是两根相交成一定角度的直线,有明显差异($P < 0.05$)。说明,当乙酰螺旋霉素组分不同时,藤黄八叠球菌比枯草芽孢杆菌敏感。这与日本近藤明等关于“乙酰螺旋霉素各组分对标准菌株的体外抗菌活性试验”⁽²⁾中所得MIC结果相吻合。

7.4 由上述结果再一次说明抗生素标准品所含的主要抗菌成分应与供试品主要抗菌成分是同属同质的

物质⁽³⁾。

参 考 文 献

- 1 周海钧等编. 生物检定统计方法. 北京: 人民卫生出版社, 1983. 72.
- 2 近藤明等. Jap. J. Antibiotics. 1990, 43(9) 1521~1529.
- 3 张治铤编著. 抗生素药品检验. 北京: 人民卫生出版社, 1987. 1.

收稿日期: 1994—03—14

Studies on the Examining Bacteria in Acetyl Spiramycin Assay

Qiu Xiaohua, Zhang Mei

(Jiangsu Provincial Institute for Drug Control, Nanjing 210008)

Abstract Two different examining bacteria (*Bacillus subtilis*, *Micrococcus lutes*) were used to determine Acetyl spiramycin regressive coefficient of standard curve. The result showed that *Micrococcus lutes* is more sensitive to the components of Acetyl spiramycin than *Bacillus subtilis*.

Key words Acetyl spiramycin Determination of regressive coefficient of standard curve

(on page 40)