

抗生素微生物检定中影响实验结果的因素探讨

姜锦发 (浙江省绍兴市药品检验所, 绍兴 312000)

抗生素微生物检定在控制抗生素药品质量中占很主要地位, 它是临床上使用最广泛的一类药品。九〇版我国药典用微生物检定法收载品种22种、54个剂型、九五版收载品种23种、65个剂型, 其质量的优劣直接关系到使用者安全和有效。但由于抗生素微生物检定操作中影响实验结果的因素较多^[1], 为了减少实验误差、保证实验结果的准确性和可靠性, 现结合几年来的工作实践, 就培养基质量、试验菌种、缓冲液pH值, 培养温度及时间、测量误差等主要环节作一些探讨。

1 检定用培养基

1.1 培养基的质量、成分、原材料的控制微生物检定法中占很重要地位, 它不仅影响细菌生长, 使抗生素对细菌的MIC发生变化, 还能影响抗生素的扩散系数和时间。特别是蛋白胨、肉膏、琼脂都能影响抑菌圈直径的大小与边缘的清晰度、对实验结果的正确性影响极大。因此, 对培养基原材料必须预先试验、挑选统一的牌号使用。

1.2 调节培养基pH值, 在测试抗生素微生物检定中常用固体成品培养基, 而实验证实成品培养基pH值往往偏低, 直接影响细菌的生长速度及抗生素在琼脂培养基内的扩散。因此, 在配制成品培养基时pH值需要调整到细菌最适宜的浓度、同时, 要求培养基生产厂在成品培养基出厂前应作各项试验检查。

2 试验用菌种

2.1 菌种纯化: 当菌种老化、衰退或污染其他杂菌时, 可出现抑菌圈边缘不清晰, 此时需要分离纯化, 挑选典型性状的单个菌落进行分离纯化培养。一般枯草芽孢选用R型, 短小芽孢杆菌选用S型所致的抑菌圈清晰、稳定、易于保存。菌液贮存于灭菌蒸馏水中使用半年以上, 如发现抑菌圈边缘不圆整可用65℃加热清除菌体可得满意结果。

2.2 菌层培养基温度的控制: 培养基温度过高可使部分试验菌被杀死, 导致抑菌圈破裂。一般菌层培养基的温度应控制在杆菌65~70℃, 球菌48~50℃, 霉菌不超过48℃为宜。

3 缓冲液pH值

缓冲液pH值浓度是控制抑菌圈大小和清晰度重要条件之一。一般来说, 碱性抗生素在偏碱性的缓冲液条件下抗菌活性较强, 酸性抗生素在偏酸性条件下抗菌活性较强。如氨基糖甙及大环内酯类等碱性抗生素选用偏碱的pH值, pH值8.0~8.2所致抗菌活性强, 抑菌圈大而清晰。又如庆大霉素选用pH9.0的硼酸盐缓冲液^[2], 硫酸小诺霉素选用pH9.0~10.5缓冲液时^[3], 产生的抑菌圈直径均能达到药典要求。

4 培养温度及时间

药典规定各抗生素的培养温度及时间, 但培养温度过高或过低都会影响抑菌圈大小和圆整程度。一般靠近孵箱较近处, 细菌生长较快, 造成局部生长速度不平衡, 抑菌圈略微小一些, 因此, 孵箱内各部分的温度应均匀和一致。但某些抗生素, 如氯霉素用藤黄八叠球菌作试验, 在规定时间内培养也可出现抑菌圈不清晰的现象, 经延长2~3h或更长后抑菌圈边缘清晰。又如硫酸丁胺卡那霉素在室温放置1~2h、自然扩散也可增大抑菌圈直径。

5 准确测量抑菌圈直径

测量抑菌圈直径是取得试验结果的重要环节。目前大部分单位仍使用游标卡尺测量、在用卡尺测量抑菌圈直径时, 眼睛视线必须与读数刻度垂直、读数才能准确。同时测量一个抑菌圈后, 必须将卡尺退回零点或移动一下, 再测量第二个抑菌圈, 以免发生主观错觉而影响获得客观的真实数据。另外, 用卡尺测量时可采用“十”字交叉法对每个抑菌

圈作两次互为垂直的直径测量,取其平均值,两次测量结果直径相差不得超过0.1 mm。

参 考 文 献

- 1 张治谏编著. 抗生素药品检验. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 1987.

- 2 胡功允. 庆大霉素微生物检定条件的探讨. 药物分析杂志, 1990, 10(5): 289.
- 3 郑桂英. 硫酸小诺霉素微生物检定条件的改进. 药物分析杂志, 1995, 15(3): 48.

收稿日期: 1996—03—19