

长时间放置药品中大肠杆菌的稳定性和检出率

滕宝霞 张晓明 王 锐 (甘肃省药品检验所, 兰州 730000)

董彦富 李 艳 (甘肃省人民医院药剂科, 兰州 730000)

摘要 污染大肠杆菌的药品在室温放置15、30、90及180 d, 用部颁法和 MUG-EMB 法检查大肠杆菌、中药检出率为93.3%、86.8%、86.8%、53.8%。化学药品为77.8%、66.7%、55.6%、33.3%。有五株发生变异, 占20%, 其中有一株变为枸橼酸杆菌、一株变为典型中间型大肠杆菌, 其它三株仍为大肠杆菌。

关键词 大肠杆菌 MUG-EMB 法 检出率

口服药品的控制菌、大肠杆菌的检查、越来越受到重视。本文报道人工污染大肠杆菌药品在室温放置180天, 大肠杆菌菌种稳定性和检出率变化。

1 材料

1.1 样品 检品

1.2 试剂 柯凡克试剂、甲基红指示剂、V-P 试剂

1.3 培养基: 胆盐乳糖增菌液、伊红美蓝琼脂(E)、MUG 培养基(M)、蛋白胨水培养基、磷酸盐葡萄糖蛋白胨水培养基、枸橼酸盐琼脂及5%乳糖培养基由中国药品生物制品检定所提供。

2 实验方法

2.1 菌种: 大肠杆菌[CMCCB 44102]为本实验室保存的标准菌; 大₁、大₂由食品中分离; 大₃、大₅、大₆由兔粪便中分离、大₄由大鼠粪便中分离。均在EMB平板上为紫黑色、圆形、凸起、光滑湿润, 有金属光泽。均发酵乳糖, 产酸产气、IMViC为++-- , MUG 荧光为大₄₄₁₀₂、大₁、大₂、大₃及大₄为强荧光(卅)、大₅为弱荧光(十)、大₆无荧光(-)。

2.2 样品染菌方法 将药品研成粉、称10 g于三角瓶中, 加入1滴经37℃培养18 h大肠杆菌培养液, 塞好, 置室温中保存, 备用。

2.3 污染大肠杆菌的药品在室温放置15、30、90及180天, 大肠杆菌的检出结果。中药见表1, 化学药品见表2。检验按《药品卫生检验方法》(1990年)

3 结果

3.1 15、30、90及180天中药检出率为93.3%、86.8%、86.8%和53.8%, 化学药品为77.8%、66.7%、55.6%和33.3%。大肠杆菌在化学药品中比在中药中死亡快。在冲剂中比在粉末中死亡快。

3.2 表1、表2可见, 大肠杆菌的荧光强度、菌落形态稳定, 说明菌种稳定。随放置时间延长、大肠杆菌死亡加快。表3可见, 有五株发生变异, 占20%, 其中一株变为枸橼酸杆菌、一株变为典型中间型大肠杆菌, 其它三株仍为大肠杆菌。

4 讨论

4.1 EMB平板上不典型菌落经多次接种, 又具有典型的大肠杆菌菌落形态, 其IMViC试验乳糖发酵试验与原菌株一致。有些无MUG荧光的菌落再次接种, 又恢复了MUG荧光的特性。大肠杆菌在药品中的变异, 在环境适宜条件下, 经反复接种, 又具有原来菌株的菌落特性和产生 β -葡萄糖醛酸酶的能力, 是暂时性变异。建议实验中对可疑菌落多次接种, 以利于恢复菌细胞的菌落形态和特性, 提高检出率。

4.2 放置30 d以内, 大肠杆菌检出率约为80%, 说明大肠杆菌菌细胞具有适应一定时间内环境波动或剧变以保持自身活动和生存能力, 细菌细胞含水量为鲜重75—85%, 药品中的大肠杆菌由于水分减少, 细胞收缩, 体积缩小, 失去正常的形状, 而导致衰老、死亡, 环境变异一般不能遗传给后代, 物种变异是由遗传物质的改变, 多为突变(突变率 10^{-6} — 10^{-8})所致, 大肠杆菌存在于药品中, 很少或无法

表 1 放置不同时间大肠杆菌在中药中的变化

菌 种	药 名	15 d		30 d		90 d		180 d	
		M	E	M	E	M	E	M	E
大 ₄₄₁₀₂ (卅)	扶正补血冲剂	卅	D	卅	D	卅	D	-	-
	补中益气	卅	D ⁰	卅	D ⁰	卅	D ⁰	卅	D ⁰
	保和丸	卅	D ⁰	卅	D ⁰	卅	D ⁰	卅	D ⁰
大 ₁ (卅)	归脾丸	卅	D	卅	D	卅	D	-	D
	前列泰片	卅	D	-	-	-	-	-	-
	开胸顺气	卅	D	卅	B	卅	BB	-	B
大 ₂ (卅)	逍遥丸	卅	D	卅	D	卅	D	卅	D
	核梅四消丸	卅	D	卅	D	卅	D	卅	D
	心痹舒	卅	D	卅	D	卅	D	-	-
大 ₆ (-)	板兰根	-	D	-	D	-	D	-	-
	消痔丸	-	D	-	D	-	D	-	-
大 ₃ (卅)	牛黄解毒丸	卅	D	卅	D	卅	D	卅	D
	益母草	卅	D	卅	D	卅	D	卅	D
大 ₄ (卅)	杏仁止咳冲剂	卅	D	卅	D	卅	D	-	-
大 ₅ (++)	脉通	++	D	+	D	+	D	+	D

注: D, 典型菌落 D⁰: MUG $\xrightarrow{\text{接种}}$ EMB为典型菌落

B, 变异菌落

D、D⁰、B的生化试验见表3。

表 2 放置不同时间大肠杆菌在西药中的变化

菌 种	药 名	15 d		30 d		90 d		180 d	
		M	E	M	E	M	E	M	E
大 ₂ (卅)	优降宁片	卅	D	卅	F	卅	F	-	-
大 ₆ (-)	消炎宁片	-	-	-	-	-	-	-	-
	盐酸乙胺丁醇片	卅	D	卅	D	卅	D	卅	D
大 ₃ (卅)	碘胺嘧啶片	卅	D	卅	D	卅	D	卅	D
	维磷冲剂	卅	D	卅	D	-	-	-	-
大 ₅ (++)	复方氨基茄片	++	D	++*	D ⁰	-	-	-	-
	磺胺二甲嘧啶片	++	D	++	D	++	D	++*	D
大 ₄ (卅)	甲苯磺丁脲片	卅	D	卅	D	卅	D	-	-
	阿斯匹林片	-	-	-	-	-	-	-	-

注: D, 典型菌落 D⁰: MUG $\xrightarrow{\text{接种}}$ EMB为典型菌落
F, 不典型菌落 * : EMB $\xrightarrow{\text{接种}}$ MUG (24h) 呈荧光。
D、D⁰、F菌落的生化试验见表3。

繁殖, 突变更少, 因而菌种变异很小, 与报道^[4]不同。

4.3 实验中 MUG-EMB 法与部颁法检出率基本

一致, 互有补充。在实验中我们同时作了 MUG-Indol 法, 但与部颁法的冲突较大, 文中未列出, 这方面的实验有待进一步深入。

表3 发生变异的菌株的生化试验及结果

药 名	菌 落	生 化 试 验					结 论
		乳糖发酵	靛 基 质	甲 基 红	VP	柠檬酸盐	
补中益气	D ⁰	+	-	+	-	-	大肠杆菌
保和丸	D ⁰	⊕	+	+	-	+	典型中间型大肠杆菌
开胸顺气	B	⊕	-	+	-	-	大肠杆菌
优降宁片	F	+	-	+	-	+	枸橼酸杆菌
复方氨茄片	D ⁰	+	-	+	-	-	大肠杆菌
其 它	D	⊕	+	+	-	-	大肠杆菌

参 考 文 献

标准的研究. 中国药事. 1993, 7卷(增刊), 1.

收稿日期: 1995—12—18

- 1 张荣藻, 王荣华. 口服制剂的控制菌(大肠杆菌)