

药品微生物限度检查中大肠杆菌检查特例

杜娟 范兵 陈林芳(昆明 650011 云南省药品检验所)

摘要 目的:对疑似大肠杆菌的菌株进行检测。方法:MUG-Indole法和药典法。结果:MUG-Indole法简便、快速、准确,优于药典法。结论:检查大肠菌群比检查大肠杆菌更能说明药品中污染控制菌的情况。

关键词 大肠杆菌;药典法;MUG-Indole法

Study on the detection of *Escherichia coli* for limit test of microorganism in drugs

Du Juan(Du J) ,Fan Bing(Fan B) ,Chen Linfang(Chen LF) (*Yunnan Institute for Drug Control , Kunming 650011*)

ABSTRACT OBJECTIVE:To detect the suspicious strain of Escherichia coli. **METHOD:**Contrast CP method with MUG-Indole method. **RESULTS:**MUG-Indole method is more quick ,precise than CP method. **CONCLUSION:**It is better to detect Coliform bacteria than to detect Escherichia coil. **KEY WORDS** Escherichia coli ,CP method ,MUG-Indole method

中国药典 1995 年版一部附录微生物限度检查法和《药品卫生检验方法》(1990 年)规定:凡为革兰氏阴性无芽胞杆菌、乳糖发酵产酸产气或产酸不产气、IMViC 反应符合++--或--++-的菌株可判为检出大肠杆菌,笔者在实验工作中发现一例特殊菌株,按药典法检查会出现误检,特提出商榷。

1 试验材料

1.1 样品

复方丹参片。

1.2 试剂与培养基

1.2.1 试剂 革兰氏染色液、柯凡克试剂、甲基红指示剂、V-P 试剂。

1.2.2 培养基 BL 增菌液、伊红美兰琼脂、三糖铁琼脂培养基、蛋白胨水培养基、柠檬酸盐琼脂、乳糖发酵培养基、MUG 诊断培养基。

1.3 仪器

366nm 紫外灯。

1.4 阳性对照菌

表 1 疑似菌株的形态、生长情况及革兰氏染色

序 号	菌落形态及色泽	三糖铁高层斜面				革兰氏染色 镜检
		底层	斜面	产气	产 H ₂ S	
1	紫红黑色,园形,边缘整齐,表面光滑湿润,无金属光泽	+	+	+	-	G ⁻ 短杆菌
2	紫红黑色,园形,边缘整齐,表面光滑湿润,无金属光泽	+	+	+	-	G ⁻ 短杆菌
3	紫红黑色,园形,边缘整齐,表面光滑湿润,无金属光泽	+	+	+	-	G ⁻ 短杆菌
4	紫红黑色,园形,边缘整齐,表面光滑湿润,无金属光泽	+	+	+	-	G ⁻ 短杆菌
5	紫红黑色,园形,边缘整齐,表面光滑湿润,无金属光泽	+	+	+	-	G ⁻ 短杆菌
阳性对照	紫黑色,园形,边缘整齐,表面光滑湿润,有金属光泽	+	+	+	-	G ⁻ 短杆菌

表 2 疑似菌株的 MUG-Indole 试验和生化鉴定试验

序 号	MUG	Indole	I	M	V-P	C/ h				
						48	72	96	120	144
1	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
2	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
3	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
4	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
5	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+
阳性对照	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

4 讨 论

4.1 IMViC 试验表明 在标准要求的培养检验时间

大肠埃希氏菌 CMCC(B) 441 02。

2 试验方法

按中国药典 1995 年版一部附录微生物限度检查法和《药品卫生检验方法》中大肠杆菌的检验方法,从已在(36±1)℃培养 24h 的 BL 增菌液中挑取增菌液,于伊红美兰平板上作分离培养后,挑取单个可疑菌落穿刺划线接种于三糖铁高层琼脂斜面,经培养后,进行革兰氏染色镜检、乳糖发酵试验以及 IMViC 试验(即靛基质试验、甲基红试验、V-P 试验和柠檬酸盐利用试验)。按 MUG-Indole 快速检定大肠杆菌方法,从已在(36±1)℃培养 24h 的 BL 增菌液中吸取 0.2ml 增菌液至 5ml MUG 诊断培养基中,(36±1)℃培养 24h 后,将 MUG 管置 366nm 紫外灯下观察,有蓝白荧光者为阳性,无则为阴性;后加柯凡克试剂于 MUG 管内,观察液面颜色,液面变红则为阳性,变黄则为阴性。本试验共取 5 支特例菌株同时进行测定。

3 结 果

内,菌株为非典型大肠杆菌即--+-,而用 MUG-Indole 快速检定大肠杆菌的方法检定,该菌株又不是大肠杆菌即 MUG 和 Indole 均为阴性,两个结果有相互矛盾之处,但若延长柠檬酸盐利用试验的培养时间至 144h 后,IMViC 试验结果变为--++-,说明该菌株属迟缓利用柠檬酸盐的类型。而现行标准中 IMViC 试验只需培养 48 小时即可进行生化试验,这就会造成该类菌株的误检。故建议将柠檬酸盐利用试验的培养时间延至 144h(6d)为佳。或在对疑似菌株进行常规生化试验的同时,进行 MUG-Indole 试验,以减少误检的机会。

4.2 以上试验结果表明 该菌株的 MUG-Indole 试验与延长培养时间的的生化试验结果是一致的,从而再

次证明 MUG Indole 试验检定大肠杆菌有快速、准确的优点^[1]。

4.3 IMViC 试验为 - + - + 的菌株虽然不符合标准中非典型大肠杆菌的要求,但却属于大肠杆菌群中的菌株,而该类菌株也可能是由于药品中所污染的非典型大肠杆菌变异所致^[2],故认为应对现行标准作必要的改进,以检查大肠菌群更为合理。

参考文献

- 1 苏德模,徐维洁,刘鹏. MUG Indole 快速检定大肠杆菌方法研究. 药物分析杂志, 1996, 16(2): 108.
- 2 张荣藻,王荣华. 口服制剂的控制菌(大肠杆菌)标准的研究. 中国药事, 1993, 7(增刊): 1.

收稿日期: 1998 - 11 - 11