

孙岚,何芳(总后第161医院药械科,武汉 430010)

中图分类号:R927.31 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2006)08-0840-02

微生物限度检查^[1]是对非规定灭菌制剂及其原辅料受到微生物污染程度的一种检查方法。《中国药典》2000年版将微生物限度标准按剂型收载,医院非灭菌制剂根据不同剂型和用途必须作相应的微生物限度检查,以保证制剂使用安全。我们对医院5种含有抑菌或杀菌成分的制剂,采用薄膜过滤法^[2]消除抑菌、杀菌成分的干扰,取得较满意的结果,现将结果报道如下。

1 仪器、试样及试药

1.1 仪器

STV3型无菌检查薄膜过滤器(浙江宁海白石药检仪器厂),LRH-250A生化培养箱(广东医疗器械厂),WGP-400隔水式电热恒温培养箱(重庆四达实验仪器有限公司),YJ-875S双人净化工作台(苏州净化厂)。

1.2 试样

苯酚甘油(本院制剂室,批号:041025,规格2% 5mL),氯霉素醇溶液(本院制剂室,批号:041008,规格5% 100mL),硼酸醇溶液(本院制剂室,批号:040302,规格4% 5mL),复方间苯二酚洗剂(本院制剂室,批号:040531,规格100mL),碘甘油(本院制剂室,批号:040915,规格1% 10mL)。

1.3 试药

营养琼脂培养基,玫瑰红钠琼脂培养基,胆盐乳糖培养基,营养肉汤培养基,甘露醇高盐琼脂培养基,溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基均购自北京三药科技开发公司。0.9%无菌氯化钠溶液(自制)。对照菌:金黄色葡萄球菌(CMCC 26003),铜绿假单胞菌(CMCC 10104)。

2 方法与结果

2.1 培养基的制备 将1.2项下的6种培养基按《中国药典》2000年版微生物限度检查方法配制,高压灭菌后,备用。

2.2 阳性对照液的稀释 取1铂金耳标准金黄色葡萄球菌及标准铜绿假单胞菌的新鲜培养物各加到10mL营养肉汤培养基中,36±1℃培养18~24h。摇匀,各取1mL,用0.9%无菌氯化钠溶液作10倍系列稀释至10⁻⁶,取10⁻⁶级菌液1mL作营养琼脂平板菌落计数(50~100CFU)。分别取10⁻⁶稀释

表2 5批样品控制菌试验考察结果

Tab 2 Control bacteria test results of 5 batches sample

品名	批号	胆盐乳糖培养基	溴化十六烷基三甲胺培养基	营养肉汤培养基	甘露醇高盐培养基	阳性对照
苯酚甘油	041025	未浑浊	无菌落生长	未浑浊	无菌落生长	有典型菌落生长
氯霉素醇溶液	041008	未浑浊	无菌落生长	未浑浊	无菌落生长	有典型菌落生长
硼酸醇溶液	040302	未浑浊	无菌落生长	未浑浊	无菌落生长	有典型菌落生长
复方间苯二酚洗剂	040531	未浑浊	无菌落生长	未浑浊	无菌落生长	有典型菌落生长
碘甘油	040915	未浑浊	无菌落生长	未浑浊	无菌落生长	有典型菌落生长

3 讨论

对含有抑菌成分的医院非灭菌制剂,我们按中国药典中

级的菌液1mL作阳性对照液。

2.3 细菌、真菌总数测定 取1.2项下的试样各2瓶(100mL取1瓶),置于灭菌三角烧瓶中,分别加入0.9%无菌氯化钠溶液至100mL,充分摇匀,以无菌操作加入装有直径50mm、孔径为0.45μm微孔滤膜的STV3封闭式过滤器内,减压抽干后,用0.9%无菌氯化钠溶液冲洗滤膜3次,每次50mL。取出滤膜,将滤膜正面贴在已倾注营养琼脂培养基、玫瑰红钠琼脂培养基的平皿上,分别在24~48h,48~72h培养,点计菌落数,本试验重复3次,结果见表1。

表1 5批样品微生物限度考察结果

Tab 1 Microbial limit test results of 5 batches sample

品名	批号	样品结果	阳性对照
苯酚甘油	041025	-	+
氯霉素醇溶液	041008	-	+
硼酸醇溶液	040302	-	+
复方间苯二酚洗剂	040531	-	+
碘甘油	040915	-	+

2.4 控制菌的测定

2.4.1 增菌分离培养 取1.2项下的样品各2瓶,按2.3项下方法操作,取出滤膜分别置于100mL胆盐乳糖培养基及营养肉汤培养基中,在36℃±1℃培养18~24h。轻轻摇匀增菌液,用铂金耳蘸取胆盐乳糖增菌液划线接种于溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基平板上,培养18~24h,用铂金耳蘸取营养肉汤增菌液划线接种于甘露醇高盐琼脂培养基平板上,培养24~72h。结果见表2。

2.4.2 阴性对照 取100mL 0.9%无菌氯化钠溶液按2.3项下方法操作,取出滤膜分别置于100mL胆盐乳糖培养基及营养肉汤培养基中,置36℃±1℃培养18~24h。用铂金耳分别蘸取阴性对照液划线于十六烷基三甲胺琼脂培养基平板上及甘露醇高盐琼脂培养基平板上分别培养18~24h、24~72h。结果阴性对照无菌落生长。

2.4.3 阳性对照 取2.2项下10⁻⁶稀释级菌液各1mL,分别加入100mL胆盐乳糖培养基及营养肉汤培养基中,摇匀。取样品按2.3项下方法操作,取出滤膜置于上述培养基中,置36℃±1℃培养18~24h,24~72h,结果见表2。

常规的方法进行微生物限度检查时,经常出现低稀释级不长或少生长菌而高稀释级才生长菌的情况,说明制剂中含有抑

菌和杀菌成分而干扰试验。我们对 5 种医院制剂,采用薄膜过滤法,消除抑菌作用影响后再进行检查,取得较好结果。从表 1、表 2 的结果可以看出,薄膜过滤法用于含抑菌制剂的染菌量及控制菌检查是可行的。

阳性对照试验的目的,是检查阳性菌在加入样品的培养基中能否生长,以确认所采用的试验条件是否符合要求,试

验技术是否恰当,从表 2 中结果可知,我们采用 50mL 冲洗液,冲洗滤膜 3 次,消除样品中抑菌性成分的办法是可行的。

试验中我们采用 2 套 3 联多次使用的无菌全封闭薄膜滤器过滤样品,其中 1 片滤膜检查细菌,1 片滤膜检查真菌,2 片滤膜检查控制菌,1 片滤膜用于阳性对照。

收稿日期:2005-06-18