

合药典标准, 30 min 时阿司匹林溶出量达 99.8%。

3 讨论

本试验选择喷雾干燥法制备阿司匹林固体分散体, 有其独特的优势, 传统溶剂法、熔融法、溶剂-熔融法制得的溶液浓缩过程中黏度较高, 导致溶剂难以完全挥干, 干燥温度较高, 干燥物结构致密, 粘壁严重, 收率较低, 喷雾干燥法具有: ①避免高温操作, 保护热敏性药物; ②喷出雾滴瞬间干燥, 保证了药物的高度分散性, 增大制剂的比表面积, 从而能更大程度的改善其溶出; ③工艺重现性好, 药物溶出快, 分散体粒子无需粉碎可满足各类固体制剂的制备要求, 产量大, 利于工业化大生产, 是一种较理想的固体分散体的制备方法。

固体分散体中药物的溶出度显著优于其物理混合物及纯药物, 推断促溶机制除了载体对药物的润湿和增溶作用外, 分散度的增加是主要的促溶机制^[6]; 同时, 固体分散体中 PVP K 30 与阿司匹林可能由于形成了复合物或氢键等相互作用而抑制药物晶核形成和结晶的生长, 使药物以无定形或分子状态存在于固体分散体中, 由于无晶格束缚, 相比稳定晶型具有较高的溶解度, 从而提高了药物的溶出速度, 为提高其口服生物利用度提供了必要的条件。

综上, 制备的阿司匹林固体分散体胶囊处方、工艺简单易行, 质量达到设计要求, 有利于提高药物溶出速度、掩盖药物的苦味, 利于口服, 可为工业化生产提供依据。

REFERENCES

- [1] LI J T, LI Z S, LIU H H, et al. Clinical analysis of non-steroidal anti-inflammatory drugs induced upper gastrointestinal bleeding [J]. Chin J Dig Endosc(中华消化内镜杂志), 2001, 18(3): 151-154.
- [2] DESAI J, ALEXANDER K, RIGA A. Characterization of polymeric dispersions of dimenhydrinate in ethyl cellulose for controlled release [J]. Int J Pharm, 2006, 308(2): 115-123.
- [3] ZHU S S. New Drug Formulations(药物新剂型) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003: 31.
- [4] LOU S L, WU L W. The clinical application of theory of aspirin [J]. Heilongjiang Med J(黑龙江医药), 2010, 23(2): 255-257.
- [5] REDONDO S, SANTOS-GALLEGO C G, GANADO P, et al. Acetylsalicylic acid inhibits cell proliferation by involving transforming growth factor-beta [J]. Circulation, 2003, 107(4): 626-629.
- [6] CUI F D. Pharmaceutics(药剂学) [M]. Vol 7. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 347-348, 352.
- [7] ZOU Y, HUANG H. Progress of preparation of solid dispersion [J]. Chin J Pharm(中国医药工业杂志), 2005, 36(10): 648-651.
- [8] LU B. New Drug Formulations and New Technology(药物新剂型与新技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1998: 3.
- [9] GAO X F, GAO J Q. Preparation of nifedipine solid dispersion by hot-melt extrusion technology [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2012, 29(11): 1002-1006.
- [10] LIU S S, ZHAO H Y, HOU Z X. Preparation of quercetin solid dispersion by hot melt extrusion [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2013, 30(7): 748-755.
- [11] Ch.P(2010)Vol II(中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: 385, Appendix 8, 85.
- [12] CUI F D. Pharmacy Experiment Instruction(药剂学实验指导) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010: 125-126.

收稿日期: 2013-09-14

稀戊二醛溶液的微生物限度检查方法的建立及方法学验证

张国庆, 程龙, 杜建红, 祝辉, 王艳丽, 刘徽, 方晨(成都市食品药品检验所, 成都 610017)

摘要: 目的 建立稀戊二醛溶液的微生物限度检查方法, 确保方法的有效性。方法 按中国药典 2010 年版二部附录 XII 对稀戊二醛溶液进行微生物限度检查法的方法学验证。结果 稀戊二醛溶液的微生物限度检查可采用薄膜过滤法进行细菌计数, 可采用培养基稀释法进行霉菌和酵母菌计数, 采用常规法进行控制菌的检查。结论 对本品进行微生物限度检查时, 应充分考虑采用一定的方法, 消除其抑菌性后再依法检查。

关键词: 稀戊二醛溶液; 微生物限度; 检查; 方法学验证

中图分类号: R927.11

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2014)08-0977-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.08.017

基金项目: 军队医疗机构制剂标准提高科研专项课题面上项目(13ZJZ04-2)

作者简介: 张国庆, 女, 主管药师

Tel: (0280)86598233

E-mail: 2456588791@qq.com

Establishment and Methodology Validation of Microbial Limit Examination for Dilute Glutaraldehyde Solution

ZHANG Guoqing, CHENG Long, DU Jianhong, ZHU Hui, WANG Yanli, LIU Wei, FANG Cheng(Institute for Drug and Instrument Control of Chengdu Military Region, Chengdu 610017, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish a effective method for microbial limit test of dilute glutaraldehyde solution. **METHODS** The methodology validation experiment for dilute glutaraldehyde solution was conducted according to the microbial limit test in the appendix XIJ of Chinese pharmacopoeia (second part, 2010 Edition). **RESULTS** In microbial limit test of dilute glutaraldehyde solution, the culture medium dilution method was used for mould and yeast count, the membrane filtration method was used for bacterial count and the routine method for control the bacteria. **CONCLUSION** During this article, some certain methods should be fully considered to eliminate this dilute glutaraldehyde solution's bacteriostasis before the experiment for microbial limit test of this medicine.

KEY WORDS: dilute glutaraldehyde solution; microbial limit; examination; methodology validation

稀戊二醛溶液为《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002 年版^[1]所记载的外用非灭菌制剂,具有杀灭细菌、真菌、芽孢和病毒作用。《中国人民解放军医疗机构制剂规范》2002 年版未给出其确切的适用性微生物限度检查方法,因此,本实验依据中国药典 2010 年版二部^[2]附录XIJ《微生物限度检查法》中方法验证试验的要求,对本品建立微生物限度检查方法并进行方法学验证,确保方法的有效性。

1 仪器与材料

稀戊二醛溶液(解放军第 452 医院配制,批号: 20130901, 20130902, 20130903), 处方: 25%戊二醛溶液 80 mL, 加适量水制成 1 000 mL 的稀溶液, 搅匀, 必要时滤过, 即得。

大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63501]、白色念珠菌[CMCC(F)98001]、黑曲霉[CMCC(F)98003], 均来源于中国药品生物制品检定所, 均为第 4 代培养物。

SW-CJ-1FD 洁净工作台(苏净集团安泰公司); DKB8A 电热恒温水浴(上海精宏实验设备有限公司); DNP-9272 电热恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司); LRH 250 生化培养箱(上海齐欣科学仪器有限公司); BSC-1000IIA2 生物安全柜(苏净集团安泰公司); HTY601 集菌仪(杭州泰林生物技术有限公司); LDZH 高压灭菌器(上海申安医疗器械厂)。

营养肉汤培养基(批号: 111207)、改良马丁培养基(批号: 111214)、营养琼脂培养基(批号: 111222)、改良马丁琼脂培养基(批号: 121122)、玫瑰红钠琼脂培养基(批号: 1303262)、胆盐乳糖培

养基(批号: 1203192)、甘露醇氯化钠琼脂培养基(批号: 120419)、溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基(批号: 1109282) 均由北京三药科技开发公司生产, 按标签说明进行配制。

0.9%无菌氯化钠溶液(自行配制, 批号: 20120411); pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液(北京三药科技开发公司, 批号: 1303112), 按标签说明进行配制。

2 方法与结果^[3-5]

2.1 细菌数、霉菌及酵母菌计数方法的验证

2.1.1 常规法测定细菌、霉菌及酵母菌数的方法验证

2.1.1.1 菌液制备 取经 35 °C 培养 22 h 的大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌的营养肉汤培养物, 用 0.9%无菌氯化钠溶液 10 倍稀释至约含 50~100 cfu·mL⁻¹ 的菌悬液, 做活菌计数备用。

取经 25 °C 培养 24 h 的白色念珠菌改良马丁培养基培养物, 用 0.9%无菌氯化钠溶液 10 倍稀释至约含 50~100 cfu·mL⁻¹ 的菌悬液, 做活菌计数备用。

取经 25 °C 培养 7 d 的黑曲霉菌改良马丁琼脂培养基斜面培养物, 加 5 mL 生理盐水洗下孢子, 吸出孢子悬液(用管口带有薄纱布的无菌毛细吸管吸出孢子悬液)至无菌试管中, 用 0.9%无菌氯化钠溶液 10 倍稀释至约含 50~100 cfu·mL⁻¹ 的孢子悬液, 做活菌计数备用。

2.1.1.2 供试品制备 取本品 10 mL, 加 pH 7.0 的无菌氯化钠蛋白胨缓冲液至 100 mL, 45 °C 水浴, 混匀即得。

2.1.1.3 回收率测定

2.1.1.3.1 供试品对照组 取供试液 1 mL, 平行制备 2 个平板, 测定供试品本底细菌数; 取供试液

1 mL, 平行制备 2 个平板, 测定供试品本底霉菌和酵母菌数。

2.1.1.3.2 菌液组 分别取“2.1.1.1”项下 5 种试验菌悬液 1 mL, 注入平皿, 每株试验菌平行制备 2 个平皿, 倾注琼脂培养基, 待凝固后, 置规定温度培养, 测定所加的试验菌数。

2.1.1.3.3 试验组 取供试液 1 mL 和大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌试验菌悬液 1 mL, 分别注入平皿中, 倾注营养琼脂培养基, 每株试验菌平行制备 2 个平板, 待凝固后, 35℃培养 3 d, 计数。

取供试液 1 mL 和白色念珠菌、黑曲霉菌悬液 1 mL 倾注玫瑰红钠琼脂培养基, 每株试验菌平行制备 2 个平板, 待凝固后, 25℃培养 5 d, 计数。

2.1.1.4 结果 按以下方法计算回收率: 试验组菌回收率=(试验组菌数-供试品本底菌数)/菌液组菌数×100%。本品采用常规法检查, 供试品对大肠埃希菌的、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的人工染菌回收率均<70%, 对黑曲霉的人工染菌回收率>70%, 但对白色念珠菌的人工染菌回收率<70%。因此, 本品细菌和霉菌及酵母菌的计数均应重新选择适当的方法, 消除其抑菌活性后再进行验证。结果见表 1。

表 1 常规法验证细菌、霉菌及酵母菌试验结果($n=2$)
Tab. 1 Conventional method validation of bacteria, mould and yeast test results($n=2$)

菌种	菌液组 菌数/ $\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$	试验组 菌数/ $\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$	供试品 本底菌数/ $\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率/ %
大肠埃希菌	62	0	0	0
金黄色葡萄球菌	52	0	0	0
枯草芽孢杆菌	80	28	0	35
白色念珠菌	91	21	0	23
黑曲霉	66	59	0	89

2.1.2 培养基稀释法测定细菌数的方法验证

2.1.2.1 菌液制备 按“2.1.1.1”项下方法制备菌液

2.1.2.2 供试品制备 按“2.1.1.2”项下方法制备供试品液。

2.1.2.3 回收率测定

2.1.2.3.1 供试品对照组 采用培养基稀释法测定供试品本底细菌数。

取供试液 1 mL, 等量分注至 10 个平皿 ($0.1 \text{ mL} \cdot \text{皿}^{-1}$), 倾注营养琼脂培养基, 待凝固后,

置 35℃培养 72 h, 测定供试品本底细菌数。

取供试液 1 mL, 等量分注至 10 个平皿 ($0.1 \text{ mL} \cdot \text{皿}^{-1}$), 倾注玫瑰红钠琼脂培养基, 待凝固后, 置 25℃培养 5 d, 测定供试品本底霉菌和酵母菌数。

2.1.2.3.2 菌液组 分别取“2.1.2.1”项下菌悬液 1 mL, 注入平皿, 每株试验菌平行制备 2 个平皿, 倾注琼脂培养基, 待凝固后, 置规定温度培养, 测定所加的试验菌数。

2.1.2.3.3 试验组 分别取供试液 0.2 mL, 等量分注至 2 个平皿 ($0.1 \text{ mL} \cdot \text{皿}^{-1}$), 每个平皿分别加入大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌试验菌悬液 1 mL, 倾注营养琼脂培养基, 每株试验菌平行制备 2 个平板, 待凝固后, 置 35℃培养 72 h, 计数。

分别取供试液 0.2 mL, 等量分注至 2 个平皿 ($0.1 \text{ mL} \cdot \text{皿}^{-1}$), 每个平皿分别加入白色念珠菌、黑曲霉菌悬液 1 mL 倾注玫瑰红钠琼脂培养基, 每株试验菌平行制备 2 个平板, 待凝固后, 25℃培养 5 d, 计数。

2.1.2.4 结果 计算回收率结果见表 2。采用培养基稀释法对细菌数进行测定, 供试品对枯草芽孢杆菌的人工染菌回收率>70%, 但对大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌的人工染菌回收率均<70%, 因此, 本品细菌计数应重新选择适当的方法消除其抑菌活性后再进行验证。

当采用培养基稀释法 ($0.1 \text{ mL} \cdot \text{皿}^{-1}$) 对霉菌和酵母菌数进行测定时, 供试品对白色念珠菌和黑曲霉的人工染菌回收率均>70%, 因此, 本品霉菌和酵母菌计数可采用培养基稀释法 ($0.1 \text{ mL} \cdot \text{皿}^{-1}$)。

表 2 培养基稀释法测定细菌数试验结果($n=2$)

Tab. 2 Culture medium dilution method bacteria number of test results($n=2$)

菌种	菌液组 菌数/ $\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$	试验组 菌数/ $\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$	供试品 对照组/ $\text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率/ %
大肠埃希菌	69	0	0	0
金黄色葡萄球菌	94	0	0	0
枯草芽孢杆菌	78	64	0	82
白色念珠菌	65	62	0	95
黑曲霉	62	58	0	94

2.1.3 薄膜过滤法测定细菌数的方法验证

2.1.3.1 菌液制备 按“2.1.1.1”项下方法制备菌液

2.1.3.2 供试品制备 按“2.1.1.2”项下方法制备供试品液。

2.1.3.3 回收率测定

2.1.3.3.1 供试品对照组 加入 50 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液过滤润湿滤膜，取供试液 10 mL 加至 50 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液，混匀，过滤。用 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液冲洗滤膜 4 次，每次 100 mL。冲洗后取出滤膜，菌面朝上贴于营养琼脂培养基上，置规定温度下培养。

2.1.3.3.2 菌液组 分别取“2.1.3.1”项下大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的菌悬液 1 mL，注入平皿，每株试验菌平行制备 2 个平皿，倾注营养琼脂培养基，待凝固后，置规定温度培养，测定所加的试验菌数。

2.1.3.3.3 试验组 加入 50 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液过滤润湿滤膜，取供试液 10 mL 加至 50 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液，混匀，过滤。用 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液冲洗滤膜 4 次，每次 100 mL。在最后一次的冲洗液中分别加入大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢

杆菌 1 mL，混匀，过滤。最后用少量的冲洗液冲洗滤器内壁。冲洗后取出滤膜，菌面朝上贴于营养琼脂培养基上，35 ℃ 培养 72 h。每种菌制备 2 张滤膜。

2.1.3.3.4 稀释剂对照组 用 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液替代供试品。加入 50 mL pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液过滤润湿滤膜，用 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液冲洗滤膜 4 次，每次 100 mL。在最后一次的冲洗液中分别加入大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌 1 mL，混匀，过滤。最后用少量的冲洗液冲洗滤器内壁。冲洗后取出滤膜，菌面朝上贴于营养琼脂培养基上，置规定温度下培养。每种菌制备 2 张滤膜。

2.1.3.4 结果 按以下方法计算回收率：稀释剂组菌回收率=稀释剂对照组平均菌落数/菌液组平均菌落数×100%。本品采用薄膜过滤法对细菌的人工染菌回收率进行测定，大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌的回收率均>70%；同时，稀释剂对照组的人工染菌回收率均>70%。因此，本品的细菌计数可采用薄膜过滤法进行测定(冲洗量：100 mL·次⁻¹，冲洗 4 次)。结果见表 3。

表 3 薄膜过滤法测定细菌数试验结果(n=2)

Tab. 3 Membrane filtration method of determination of bacterial count test results(n=2)

菌 种	菌液组菌数/ cfu·膜 ⁻¹	试验组菌数/ cfu·膜 ⁻¹	供试品对照组/ cfu·膜 ⁻¹	试验组 回收率/%	稀释剂对照组 菌数/cfu·膜 ⁻¹	稀释剂组 回收率/%
大肠埃希菌	86	78	0	91	74	86
金黄色葡萄球菌	74	68	0	92	76	103
枯草芽孢杆菌	79	76	0	96	72	91

2.2 控制菌检查方法的验证

2.2.1 供试液制备 取本品 10 mL，加 pH 7.0 的无菌氯化钠蛋白胨缓冲液至 100 mL，45 ℃ 水浴，混匀即得。

2.2.2 菌液制备 按“2.1.1.1”项下方法计算其他菌液。取经 35 ℃ 培养 22 h 的铜绿假单胞菌的营养肉汤培养物，用 0.9% 无菌氯化钠溶液 10 倍稀释至约含 50~100 cfu·mL⁻¹ 的菌悬液，做活菌计数备用。

2.2.3 铜绿假单胞菌检查的方法验证

2.2.3.1 试验组 取供试液 10 mL 及制备好的铜绿假单胞菌菌悬液 1 mL 加入到 100 mL 的胆盐乳糖培养基中，35 ℃ 培养 22 h。取“2.2.1”项下培养物，划线接种于溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基的平板上，培养 22 h 后，和阳性对照组比较，

观察是否有典型菌落生长。

2.2.3.2 阳性对照组 取制备好的铜绿假单胞菌菌悬液 1 mL 加入到 100 mL 的胆盐乳糖培养基中，35 ℃ 培养 22 h。取上述培养物，划线接种于溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基的平板上，培养 22 h 后，观察细菌生长情况。

2.2.3.3 供试品对照组 取供试液 10 mL 加入到 100 mL 胆盐乳糖培养基中 35 ℃ 培养。其他操作按“2.2.3.1”项下方法。

2.2.3.4 结果 试品对照组未检出铜绿假单胞菌，试验组和阳性对照组均检出铜绿假单胞菌，本品铜绿假单胞菌的检查可采用常规法(胆盐乳糖培养基：100 mL)。结果见表 4。

表 4 铜绿假单胞菌检查方法验证结果

Tab. 4 *Pseudomonas aeruginosa* inspection method validation results

组 别	胆盐乳糖 培养基	溴化十六烷基 三甲铵平板	检查结果
试验组	+	+	检出
阳性菌对照组	+	+	检出
供试品对照组	-	-	未检出

2.2.4 金黄色葡萄球菌检查的方法验证

2.2.4.1 试验组 取供试液 10 mL 及制备好的金黄色葡萄球菌菌悬液 1 mL 加入到 100 mL 的营养肉汤培养基中，35℃培养 22 h。取上述培养物，划线接种于甘露醇氯化钠琼脂培养基的平板上，培养 22 h 后，和阳性对照组比较，观察是否有典型菌落生长。

2.2.4.2 阳性对照组 取制备好的金黄色葡萄球菌菌悬液 1 mL 加入到 100 mL 的营养肉汤培养基中，35℃培养 22 h。取上述培养物，划线接种于甘露醇氯化钠琼脂培养基的平板上，培养 22 h 后，观察细菌生长情况。

2.2.4.3 供试品对照组 取供试液 10 mL 加入到 100 mL 营养肉汤培养基中 35℃培养。其他操作按“2.2.4.1”项下方法。

2.2.4.4 结果 供试品对照组未检出金黄色葡萄球菌，试验组和阳性对照组均检出金黄色葡萄球菌，本品金黄色葡萄球菌的检查可采用常规法(营养肉汤培养基：100 mL)。结果见表 5。

表 5 金黄色葡萄球菌检查方法验证结果

Tab. 5 *Staphylococcus aureus* inspection methods validation results

组 别	营养肉汤 培养基	甘露醇氯化钠 平板	检查结果
试验组	+	+	检出
阳性菌对照组	+	+	检出
供试品对照组	-	-	未检出

3 方法验证结论及标准修订

本品微生物限度检查可采用薄膜过滤法进行细菌计数，可采用培养基稀释法进行霉菌和酵母菌计数，采用常规法进行控制菌的检查。根据验证结果将微生物限度检查方法记录如下：

微生物限度：取本品 10 mL，加 pH 7.0 的无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液至 100 mL，45℃水浴，

混匀得 1：10 供试液。细菌计数采用薄膜过滤法(冲洗量：100 mL·次⁻¹，冲洗 4 次)，霉菌和酵母菌计数采用培养基稀释法(0.1 mL·皿⁻¹)，控制菌采用常规法进行检查(胆盐乳糖和营养肉汤培养基均为：100 mL)参照中国药典 2010 年版二部附录 XIJ，应符合规定。

4 讨论

由于本品在临床上用于手术器械和仪器的浸泡消毒，建议微生物限度检查的规定值比普通外用非灭菌制剂严格，拟规定细菌数应不得过 10 cfu·mL⁻¹，霉菌和酵母菌数应不得过 10 cfu·mL⁻¹，金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌每毫升不得检出。不同生产单位生产的同一产品，由于生产工艺可能存在差异而导致产品的组分不同，不能简单照搬此检验方法，而应进行适用性的确认。

在选用微生物限度验证方法时，有个通用原则，即：“就简不就繁”。而笔者不能直接判定稀戊二醛溶液对细菌、霉菌和酵母菌以及控制菌的抑菌程度，所以在采用薄膜过滤法之前，还考察了常规法和培养基稀释法(0.1 mL·皿⁻¹)，由于采用培养基稀释法(0.1 mL·皿⁻¹)对霉菌和酵母菌数进行测定时，供试品对白色念珠菌和黑曲霉的人工染菌回收率均高于 70%，因此，本品霉菌和酵母菌计数就采用培养基稀释法(0.1 mL·皿⁻¹)，而不再采用薄膜过滤法再验证。

本品为 2002 年版《中国人民解放军医疗机构制剂规范》外用非灭菌溶液剂，可参照 2010 年版中国药典中对洗剂或搽剂的检查标准。

REFERENCES

[1] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部)[S]. 2010: Appendix 107-116.

[2] General Logistics Department, Ministry of Health of China PLA. Specification for Medical Chinese PLA Formulations(中国人民解放军医疗机构制剂规范) [M]. Beijing: People's Military Medical Press, 2002: Appendix 67-80.

[3] SU D M, MA S R. Microbiological Examination Technology of Medicine(药品微生物学检验技术) [M]. Beijing: Hualing Press, 2007: 221-227.

[4] ZHONG G Q, LIU D W. The validation method of microbial limit test for 21 kinds of hospital external use preparations [J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2010, 11(6): 461-476.

[5] ZHONG Z M, CHEN X, WU Y H. The existing problems in validation method of microbial limit test and sterility test [J]. Drug Standard China(中国药品标准), 2011, 12(1): 12-13.

收稿日期：2013-12-04