

# 颠茄合剂微生物限度检查的方法验证

夏建洪,周桂芳(浙江省金华市人民医院,浙江 金华 321000)

**摘要:**目的 对颠茄合剂的微生物限度检查进行方法验证。方法 微生物限度检查及无菌检查。结果 试验组的菌回收率均达到 70%以上,试验组 MUG 及靛基质试验均为阳性,检出大肠埃希菌,阴性对照菌金黄色葡萄球菌未检出。结论 对颠茄合剂的微生物限度检查及无菌检查可按常规法进行检验。

**关键词:**颠茄合剂;微生物限度检查;无菌检查

**中图分类号:**R927.12      **文献标识码:**B      **文章编号:**1007-7693(2006)09-0923-02

颠茄合剂<sup>[1]</sup>为解痉药,用于治疗胃肠痉挛效果较佳,为各医院制剂室的常规规范制剂。微生物限度检查及无菌检查是涉及制剂安全性的重要质量指标<sup>[2]</sup>。非无菌制剂一般应进行微生物限度检查,目的是检查其受微生物污染程

度<sup>[3]</sup>。中国药典 2000 版及以前的版本虽然收载了微生物限度检查及无菌检查法,但在如何保证检验方法的科学性及检验结果的准确性方面存在一些问题。2005 版药典则明确规定当进行药品微生物限度检查或无菌检查时应进行方法验

证,因为只有通过方法验证,才能确定具体制剂的具体检验方法,保证采用的方法科学性和检验结果的准确性。为此我们对颠茄合剂的微生物限度检查及无菌检查进行方法验证。

## 1 样品

颠茄合剂(本院制剂)规格 100mL,批号:050806、050827、050918。

## 2 验证用菌种

大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、金黄色葡萄球菌[CMCC-B(B)26003]、枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63501]、黑曲霉[CMCC(F)98003]、白色念珠菌[CMCC(F)98001]上述菌种均由金华市药品检验所提供的,本院保藏,均为五代以内。

## 3 培养基

营养琼脂培养基、玫瑰红钠琼脂培养基、胆盐乳糖培养基、改良马丁液体培养基、改良马丁琼脂培养基、4甲基伞形酮葡萄糖苷酸培养基,以上培养基均为北京三药科技开发公司生产。

## 4 稀释剂

0.9%无菌氯化钠溶液、pH7.0无菌氯化钠蛋白胨缓冲液。

## 5 方法

照《中国药典 2005年版二部附录 XI J》有关微生物限度检查法方法验证试验。

## 6 具体操作方法

### 6.1 菌液制备

(1)取经37℃培养18~24h的金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌的营养肉汤培养物1mL+9mL0.9%生理盐水管,10倍稀释至 $10^{-6}$ ~ $10^{-7}$ ,做活菌计数备用。

(2)取经26℃培养18~24h的白色念珠菌改良马丁液体培养物1mL+9mL0.9%生理盐水管,10倍稀释至 $10^{-5}$ ,做活菌计数备用。

(3)取经26℃培养5d的黑曲霉改良马丁琼脂斜面培养物,加3mL生理盐水洗下霉菌孢子,吸取出菌液,然后取1mL+9mL0.9%生理盐水管,10倍稀释至 $10^{-5}$ ,做活菌计数备用。

### 6.2 供试液制备

取样品10mL,加入pH7.0无菌氯化钠蛋白胨缓冲液90mL置灭菌三角烧瓶中成1:10供试液,人工污染上述5种菌株。

### 6.3 回收率测定 见表1。

表1 微生物检查方法验证

Tab 1 Results of recovery

| 人工染菌回收率 % |             |            |           |      |
|-----------|-------------|------------|-----------|------|
| 大肠<br>埃希菌 | 金黄色<br>葡萄球菌 | 枯草芽<br>孢杆菌 | 白色<br>念珠菌 | 黑曲霉  |
| 050806    | 94.8        | 95.0       | 100.9     | 92.0 |
| 050827    | 97.9        | 91.2       | 91.8      | 98.3 |
| 050918    | 90.6        | 82.9       | 103.6     | 90.6 |
|           |             |            |           | 98.5 |

6.4 ①试验组:摇匀,分别取1:10供试液1mL,加入上述备用的试验菌液1mL,加入平皿中,立即倾注琼脂培养基,测定

细菌用营养肉汤琼脂培养基,测定白色念珠菌及黑曲霉采用改良马丁琼脂培养基,待凝固后,置规定温度培养24~72h观察结果。②菌液组:取1mL,测定加入的菌数。③供试液对照组:取供试品1mL,测定供试品本底菌数。

## 6.5 菌落计数结果 见表2、表3。

表2 菌液组菌落计数(cfu/mL)(48h计数)

Tab 2 cfu count results

| 大肠埃<br>希菌 $10^{-7}$ | 金黄色葡<br>萄球菌 $10^{-6}$ | 枯草芽孢<br>杆菌 $10^{-6}$ | 白色念<br>珠菌 $10^{-5}$ | 黑曲霉<br>$10^{-5}$ |
|---------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|------------------|
| 52/45               | 173/166               | 104/115              | 149/139             | 110/92           |

注:本底菌数均为0个/g。

表3 供试品对照组菌落计数(cfu/mL)(48h计数)

Tab 3 cfu count results of samples

| 大肠埃希<br>菌 $10^{-7}$ | 金黄色葡萄<br>球菌 $10^{-6}$ | 枯草芽孢<br>杆菌 $10^{-6}$ | 白色念珠<br>菌 $10^{-6}$ | 黑曲霉<br>$10^{-5}$ |
|---------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|------------------|
| 1 49/42             | 149/174               | 117/105              | 143/122             | 99/94            |
| 2 45/49             | 138/172               | 104/98               | 131/152             | 102/113          |
| 3 35/52             | 154/128               | 128/100              | 129/132             | 90/109           |

6.6 结果 试验组的菌回收率均达到70%以上,本品可按常规法进行菌数测定。(注:常规法为1mL供试液加15~20mL菌落计数用培养基)。

## 7 大肠埃希菌检查

7.1 菌种 取经37℃培养18~24h的大肠埃希氏菌营养肉汤培养物1mL+9mL0.9%生理盐水管,10倍稀释至 $10^{-7}$ ,做活菌计数备用。

7.2 试验组 取大肠埃希菌菌液1mL(含菌量为36个/mL)和10mL供试液,同时加入100mL胆盐乳糖增菌液中。按2005年版中国药典附录XI J项下微生物限度检查法大肠埃希菌检查法项下依法检查。

7.3 阴性对照组 同时以金黄色葡萄球菌作为阴性对照菌,方法同试验组。加入量为1mL(含菌量60个/mL)。按2005年版中国药典附录XI J项下微生物限度检查法金黄色葡萄球菌检查法项下依法检查。

7.4 结果 试验组MUG及靛基质试验均为阳性,检出大肠埃希菌,阴性对照菌金黄色葡萄球菌未检出。

7.5 根据验证结果,控制菌的检查可用上述方法制备的供试液,按常规法进行检验。

## 8 结论

根据以上方法验证,说明对颠茄合剂的微生物限度检查及无菌检查可按常规法进行检验。

## 参考文献

[1] 《浙江省医院制剂规范》

[2] 马绪荣,骆传统.提高医院普通制剂卫生质量是当务之急.中国药事,1990,(02).

[3] 严炎中.考察颠茄合剂三种处方对微生物限度检查的影响.药学实践杂志,2003,(03).