

· 研究报告 ·

复方红景天口服液微生物限度检查方法的验证

陈雅琳¹, 冯旭¹, 陈虹², 栾洁¹, 赵龙², 汪家春¹ (1. 海军医学研究所, 上海 200433; 2. 天津科技大学, 天津 300457)

[摘要] **目的** 建立复方红景天口服液的微生物限度检查方法。**方法** 按照《中华人民共和国药典》(2010年版)附录微生物限度检查法中细菌、霉菌及酵母菌计数方法和控制菌检查方法进行验证。**结果** 金黄色葡萄球菌采用培养基稀释法, 大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、白念珠菌、黑曲霉采用常规法, 回收率>70%; 控制菌检查中, 各阳性实验菌均检出, 阴性对照无菌生长。**结论** 经验证, 复方红景天口服液微生物限度采用培养基稀释法检查金黄色葡萄球菌; 采用常规法检查大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、白念珠菌、黑曲霉等。

[关键词] 复方红景天口服液; 微生物限度检查; 方法学验证

[中图分类号] R927.33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)02-0177-02

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.020

Validation of microbial limit tests for compound Hongjingtian oral liquid

CHEN Yalin¹, FENG Xu¹, CHEN Hong², LUAN Jie¹, ZHAO Long², WANG Jiachun (1. Naval Medical Research Institute of PLA, Shanghai 200433, China; 2. Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

[Abstract] **Objective** To establish a method of microbial limit tests for compound Hongjingtian oral liquid and to perform the validation of the method. **Methods** The validation on the microbial limit test method was conducted according to the counting method of bacteria, mycetes and yeasts and the control bacteria test method stated in the appendix of China pharmacopoeia (2010 edition). **Results** The recoveries were over 70% when culture diluting method was used for *staphylococcus aureus* and routine test method was used for *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans* and *Aspergillus niger*. In the test of positive control bacteria, the growth was detected, while the negative control was no growth detected. **Conclusion** The microbial limit test for compound Hongjingtian oral liquid is validated in this study. The amount of *staphylococcus aureus* can be determined using diluted culture method; while the amounts of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* can be determined by conventional method.

[Key words] compound Hongjingtian oral liquid; microbial limit test; validation of the method

复方红景天口服液是由解放军海军医学研究所研制, 以红景天为君药, 与黄芪等中草药配伍研制的具有抗疲劳作用的口服液制剂。《中华人民共和国药典》(2010年版)^[1]对药品微生物限度检验方法做出相应的验证要求, 建立科学、合理的检验标准, 有效控制药品的质量, 保证微生物限度检查方法的科学性和检验结果的准确性。本研究参考相关文献[2-4]进行多次实验, 确定了复方红景天口服液微生物限度的检查方法。

1 实验材料

1.1 药品与培养基 复方红景天口服液(规格: 10 ml/瓶, 解放军海军医学研究所, 批号: 20121208、20130110、20130309); 营养琼脂培养基、玫瑰红钠琼脂培养基、营养肉汤培养基、改良马丁琼脂培养基、胆盐乳糖增菌培养基、蛋白胨(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 菌株 参照文献[1]中细菌、霉菌及酵母菌计数项下“菌种”(上海食品药品检验所)。

1.3 仪器 恒温培养箱(江苏太仓实验设备厂)、生化培养箱(广州市康恒仪器有限公司)、电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)、高压蒸汽灭菌器(淄博康元卫生器材有限公司)、净化工作台(苏州净化设备有限公司)、三用紫外分析仪(杭州赛析科技有限公司)。

[基金项目] 全军医药卫生科研基金项目(14TG0294)

[作者简介] 陈雅琳, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 公共管理. E-mail: sxheyl@163.com

[通讯作者] 汪家春, 本科, 副研究员, 研究方向: 运动医学. E-mail: biyanj@hotmail.com

2 方法与结果

2.1 菌液制备 参照文献[1]细菌、霉菌及酵母菌计数项下“菌液制备”部分。

2.2 供试液的制备 取复方红景天口服液 10 ml, 加入 pH 值 7.0 的无菌缓冲液至 100 ml, 振摇混匀, 制成 1:10 的供试液, 备用。

2.3 细菌、霉菌及酵母菌计数方法的验证 参照文献[1]细菌、霉菌及酵母菌计数项下“验证方法”部分。

回收率的计算: 进行 3 次独立的平行试验, 分别

计算常规法实验组、培养基稀释法实验组和稀释剂对照组菌数回收率的平均值, 依据文献[1]附录微生物限度检查方法进行判定。

2.4 细菌、霉菌及酵母菌计数方法的验证结果 由表 1 结果可知, 稀释剂对照组的菌数回收率均 > 70%, 实验组的菌数回收率, 除金黄色葡萄球菌外, 均 > 70%; 采用培养基 0.1 ml 稀释法, 金黄色葡萄球菌的回收率 > 70%。鉴于此, 复方红景天口服液在微生物限度检查时, 金黄色葡萄球菌采用培养基稀释法, 其他 4 株菌采用常规法。

表 1 细菌、酵母菌及霉菌计数方法验证结果 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	回收率 (%)				
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	白念珠菌	黑曲霉
稀释剂对照组	96.7 ± 3.8	96.0 ± 3.5	93.0 ± 2.6	91.0 ± 13.7	99 ± 1.7
常规法实验组	88.3 ± 4.7	<70	90.3 ± 1.2	86.7 ± 14.6	99.0 ± 3.6
培养基稀释法实验组	—	92.7 ± 4.6	—	—	—

注: “—”表示未检测

2.5 控制菌检查方法的验证 ①实验组: 取 1:10 供试液 10 ml 加入到 100 ml 胆盐乳糖培养基中, 再加入 10~100 cfu 大肠杆菌悬液。按文献[1]附录微生物限度检查项下“大肠杆菌检查法”检查, 进行 3 次独立的平行试验。②阴性菌对照组: 取 1:10 供试液 10 ml 加入到 100 ml 胆盐乳糖培养基中, 再加入 10~100 cfu 金黄色葡萄球菌悬液, 按与实验组相同的方法进行实验。③供试品对照组: 取 1:10 供试液 10 ml 加入到 100 ml 胆盐乳糖培养基中, 按与实验组相同的方法进行实验。结果见表 2。

表 2 控制菌检查法验证结果

组别	MUG (5 h)	MUG (24 h)	靛基质反应
实验组	+	+	+
阴性菌对照组	—	—	—
供试品对照组	—	—	—

MUG: 4-甲基伞形酮葡萄糖苷酸

结果显示, 阳性菌生长良好, 阴性菌均未检出, 复方红景天口服液对大肠杆菌没有抑制作用, 可用常规法进行检验。

2.6 样品微生物限度检查 采用确立的检验方法对 3 批样品进行微生物限度检查, 细菌、霉菌或酵母菌总数均 < 10 cfu/ml, 符合规定。均未检出控制菌 (大肠杆菌), 结果均符合我国《药典》对口服制剂的

限度要求。

3 结论

复方红景天口服液采用常规法进行细菌、霉菌和酵母菌计数方法验证时, 金黄色葡萄球菌的回收率 < 70%, 表明本品对其有抑制作用, 采用培养基稀释法可使其回收率达 70% 以上, 大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、白念珠菌、黑曲霉的回收率 > 70%, 可用常规法对金黄色葡萄球菌进行计数检查。控制菌检查方法的验证结果表明, 本品可按常规法进行控制菌 (大肠杆菌) 的检查。该方法可有效地控制复方红景天口服液的质量, 建立的方法准确可靠。3 批样品微生物限度实验结果表明, 复方红景天口服液已达到口服给药制剂的标准。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2010 年版 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 附录, 79-88, 138.
- [2] 宋永熙, 刘世萍, 马妍妍, 等. 安神宁口服液微生物限度检查方法的研究[J]. 中国药理学杂志, 2012, 47(13): 1074-1076.
- [3] 谭梅英, 张诚光, 范宋玲. 中风复元口服液微生物限度检查法验证[J]. 江西中医学院学报, 2012, 24(1): 48-49.
- [4] 何进, 顾明业, 高军, 等. 桃红四物口服液微生物限度检查的方法验证[J]. 解放军药学学报, 2010, 26(4): 371.

【收稿日期】 2015-01-05 【修回日期】 2015-07-15

【本文编辑】 李睿旻