



中成药微生物计数法前处理的影响因素和优化方法

肖农, 陆诗依, 唐文雅, 居敏俐, 徐刚锋, 杨明华

Influencing factors and optimization methods of pre-treatment for microbiological counting method of proprietary Chinese medicine

XIAO Nong, LU Shiyi, TANG Wenya, JU Minli, XU Gangfeng, YANG Minghua

在线阅读 View online: <http://yxsj.smmu.edu.cn/en/article/doi/10.12206/j.issn.2097-2024.202403014>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

胆宁片预处理在糖尿病患者结肠镜检查前的应用效果分析

Effectiveness analysis of Danning tablets in pre-treatment for colonoscopy in diabetes mellitus patients

药学实践与服务. 2024, 42(9): 407–410 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202407037

花椒生物碱富集纯化工艺优化及其成分分析

Optimization of purification process and component analysis of alkaloids from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim

药学实践与服务. 2025, 43(2): 75–81 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202404066

星点设计-效应面法优化仑伐替尼混合胶束的制备工艺

Optimization of the preparation process for lenvatinib mixed micelles by central composite design-response surface methodology

药学实践与服务. 2024, 42(11): 495–502 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202403019

一种中药组合物对ANIT诱导的小鼠胆汁淤积肝损伤的保护作用研究

The protective effect of a traditional chinese medicine composition on ANIT induced liver injury in mice with cholestasis

药学实践与服务. 2024, 42(12): 508–511, 519 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202305008

脑胶质瘤微流控芯片模型的构建及中药半枝莲药效评价应用研究

Construction of glioma microfluidic chip model and its application research on evaluation the medicinal efficacy of the Chinese medicine *Scutellaria barbata*

药学实践与服务. 2025, 43(2): 59–66 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202409034

黄芪甲苷衍生物治疗慢性心力衰竭小鼠的药效评价及作用机制研究

Efficacy and mechanism of astragaloside IV derivatives on chronic heart failure in mice

药学实践与服务. 2024, 42(5): 190–197 DOI: 10.12206/j.issn.2097-2024.202310004



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

· 综述 ·

中成药微生物计数法前处理的影响因素和优化方法

肖农, 陆诗依, 唐文雅, 居敏俐, 徐刚锋, 杨明华(上海市浦东食品药品检验所, 上海 201203)

[摘要] 中成药组方成分多样, 理化和生物学特性复杂, 使其在微生物限度检查中微生物计数法的前处理(供试液制备)受到许多因素的干扰, 最终影响检验结果的重复性和准确性。优化中成药微生物计数法前处理工作对提高微生物检验的准确性及保障非无菌制剂的安全性和有效性有实际应用意义。该文对中成药前处理目前涉及的关键影响因素和优化方法进行系统分析和综述。

[关键词] 中成药; 微生物限度检查; 微生物计数法; 前处理

[文章编号] 2097-2024(2025)08-0373-04

[DOI] [10.12206/j.issn.2097-2024.202403014](https://doi.org/10.12206/j.issn.2097-2024.202403014)

Influencing factors and optimization methods of pre-treatment for microbiological counting method of proprietary Chinese medicine

XIAO Nong, LU Shiyi, TANG Wenya, JU Minli, XU Gangfeng, YANG Minghua(Shanghai Pudong Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

[Abstract] Due to the diverse composition and complex physicochemical and biological characteristics, the pre-treatment of microbiological counting method (preparation of test solution) in microbiological limit test were interfered by many factors, which ultimately affected the repeatability and accuracy of test results. Improving the accuracy of microbiological test is of practical significance to ensure the safety and effectiveness of non-sterile preparations. In this paper, the key factors and optimization methods involved in the pre-treatment of proprietary Chinese medicines were systematically analyzed and summarized.

[Key words] proprietary Chinese medicine; microbial limit test; microbial counting method; sample pre-treatment

药品非无菌产品微生物限度检查中微生物计数法(简称计数法)是药品检验的重要组成部分, 是对能在有氧条件下生长的嗜温细菌和真菌的定量计数^[1]。计数法检验流程概括为: 取供试品根据其理化和生物学特性, 采取适宜的方法制备供试液。倍比稀释, 选取 1~3 个合适的稀释级(根据样品特性和污染情况)用平皿法、薄膜过滤法或 MPN 法做供试品检查。供试样品的制备过程中使样品充分溶解或分散, 并有效降低或消除药品本身的抑菌性在检验过程中尤为重要, 是得到准确的微生物计数检验结论的关键点。过去的研究主要集中在对计数法检验有影响的菌株选择和保存、培养基质量控制、操作环境控制及被检样品方法适用性研究, 而对药品的前处理(即供试液的制备方法)尤其是中成药的前处理法研究甚少。据文献报道^[2-7], 影响

微生物限度检验误差因素分析中因前处理所产生误差在各因素中占比较高。李超美^[8]曾组织同省 9 个药检所对同厂家、同批号中成药“香莲丸”做微生物限度验证, 发现验证方法并不完全相同, 以致验证结果不同, 影响实验结果一致性评价。分析其主要原因是选择了不同的前处理方法, 样品经前处理后是否完全溶解或分散, 供试液中颗粒大小和沉降速度, 取供试液时使用振摇混匀还是取上清液、样品抑菌性是否被中和等因素直接影响微生物的回收率, 致使各实验室有的采用常规法, 有的采用培养基稀释法, 有的采用薄膜过滤法才能使回收率达到《中华人民共和国药典》(简称《中国药典》) 2020 版规定的要求。

鉴于中成药微生物限度计数法前处理工作对提高中成药的检验质量影响较大, 本文就中成药前处理关键影响因素和优化方法进行了系统的分析和综述。

1 影响计数法前处理的因素分析

1.1 中成药溶解性分类

《中国药典》2020 版与欧美药典^[1,9-10]在样品供

[基金项目] 上海市食品药品监督管理局课题研究项目(YB-2020-03)

[作者简介] 肖农, 高级工程师, 研究方向: 食品药品化妆品检验, Tel: 13817945241, Email: xiaonong22@163.com

[通信作者] 杨明华, 副主任药师, 研究方向: 药品食品检验, Tel: 18930763898, Email: yang0411@163.com

试液制备时(前处理)都根据药品的理化特性和生物学特性将药品分类。一般口服制剂除肠溶、结肠溶和膜剂供试品外,基本分为3类:水溶性供试品、水不溶性非油脂类供试品、油脂类供试品。中成药配方复杂,成分多样,制法较西药特殊。如片剂中牛黄解毒片是由人工牛黄、雄黄、石膏、大黄、黄芩、桔梗、冰片、甘草八味药组成,制法是:以上八味,雄黄水飞成极细粉;大黄粉碎成细粉;人工牛黄、冰片研细;其余黄芩等四味加水煎煮二次,合并滤液浓缩成稠膏或干燥成干浸膏,加入大黄、雄黄粉末,制粒,干燥,再加入人工牛黄、冰片粉末,混匀,压制而成片^[11]。丸剂中防风通圣丸由防风、大黄、芒硝、梔子、滑石、白术、白芍、当归等十七味中药组方。制法是以上十七味,滑石粉碎成极细粉;其余防风等十六味粉碎成细粉,过筛,混匀,用水制丸,干燥,用滑石粉包衣,打光,干燥,即得。或以上十七味粉碎成细粉,过筛,混匀,用水制丸,干燥,即得^[11]。从以上两个中成药的配方、制法可以看出:中成药是药材提取物与原粉的混合,雄黄、石膏是矿物质,冰片是植物提取物结晶,都不溶于水,其他生药原粉也不能完全溶于水,所以较难将其简单分成水溶性、不溶性非油脂类供试品、油脂类供试品,这是影响各实验室选择前处理方法制备样品最直接的因素。

1.2 缓冲液 pH 值

《中国药典》2020版和欧洲药典的缓冲液pH值范围基本相同^[1,10],为pH 7.0、pH 7.2、pH 6.8、pH 7.6,制备供试液时,可调节pH值至6~8。中成药组方成分和制造工艺多样,产品的pH值范围较广,需要缓冲能力较大的缓冲液才可将pH值调节到接近药典要求的缓冲范围(pH 6~8)。如麻仁丸配方为火麻仁、枳实(炒)、苦杏仁、大黄、炒白芍、姜厚朴。其制法为以上六味,除火麻仁、苦杏仁外,其余大黄等粉碎成细粉,再与火麻仁、苦杏仁掺研成细粉,过筛,混匀。粉末用炼蜜加适量的水制丸,干燥,制成水蜜丸;或加炼蜜制成小蜜丸或大蜜丸,即得^[11]。这一制作过程对成品的酸碱度没有特殊要求。又如一清胶囊的处方为黄连、大黄、黄芩。其制法是以上三味分别加水煎煮两次,合并煎液,滤过,滤液分别减压浓缩,喷雾干燥,制得黄芩浸膏粉及大黄和黄连的混合浸膏粉。两种浸膏粉分别制颗粒,干燥,粉碎,加入淀粉、滑石粉和硬脂酸镁适量,混匀,装入胶囊,制粒,即得。整个过程没有测定酸碱度^[11]。再如乙肝益气解郁颗粒,配方为柴胡(醋炙)、白芍、枳壳、橘叶、

黄芪、丹参、党参、茯苓、桂枝、瓜蒌、刺五加、黄连、法半夏、山楂、决明子、五味子。其制法是以上十六味,白芍、茯苓、法半夏分别粉碎,过筛,依次取细粉混匀,备用;剩余的粗粉备用。五味子粉碎后用80%乙醇回流提取两次,合并提取液,回收乙醇,备用。其余柴胡(醋炙)等十二味及白芍等三味的粗粉加水煎煮两次,合并煎液,静置12 h,取上清液,与上述五味子提取液合并,浓缩,加入上述细粉及适量糖粉混匀,制成颗粒^[11]。从以上丸剂、胶囊剂、颗粒剂的举例中可以看出,中成药的pH值范围比较宽泛,将被检样品的前处理液加入胰酪大豆胨琼脂和沙氏葡萄糖琼脂做需氧菌总数、霉菌和酵母总数检验,或许会改变培养基的酸碱度进而影响菌落的生长繁殖,从而影响菌落计数结果的准确性。根据细菌适应酸碱度不同可将微生物分成中性微生物、嗜酸性微生物和耐酸性微生物、嗜碱性微生物、耐碱性微生物等。培养基酸碱环境的改变,必然影响微生物的生长繁殖。另有研究表明,药品的分散度也会影响供试液的pH值,进而影响微生物的生长,造成实验结果的差异^[12]。

1.3 非离子表面活性剂的添加浓度

增加被检样品的分散度和溶解度有利于样品中的微生物更均匀的分布于处理液中。取样均匀性的提升有助于提高微生物的检出率。吐温-80为非离子型表面活性剂,亲水性强,是优良的O/W型乳化剂,对植物油、矿物油、动物油脂等均有良好的乳化作用。根据《中国药典》2020版四部通则1105,供试液前处理添加吐温-80浓度为0.1%,如水不溶性非油脂类分散力较差的供试品,可在稀释液中加入无菌0.1%的聚山梨酯80。油脂类供试品可加入无菌十四烷酸异丙酯,或与最少量并能使供试品乳化的无菌聚山梨酯80或其他无抑菌性的无菌表面活性剂充分混匀^[1]。表面活性剂浓度过高会使细菌细胞膜中的脂类溶解而造成菌体死亡^[13-16]。因此,使用合适浓度的表面活性剂尤为重要。王康等^[17]增加吐温-80的比例制备中药提取物穿心莲内酯固体分散体,发现其能有效提高穿心莲内酯的溶出速率。高飞等^[18]在化妆品检测中使用含1 g/L卵磷脂和7 g/L的吐温-80生理盐水做缓冲液,可中和化妆品中防腐剂对绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用。张光华等^[19]在缓冲液中添加3%吐温-80和0.3%卵磷脂,中和抑菌性较强的药品。中成药原料来源广泛,有动植物及矿物等,因此,表面活性剂在计数法前处理中的最适合用量仍有待研究。

1.4 中和剂或灭活方法

中成药种类多且成分复杂,难以归入药典列出

的干扰物种类中。许多中成药对临床耐药细菌具有较好的抑制作用,临幊上也常用抗菌中成药和抗生素联合应用来降低细菌的耐药性。深入研究中成药抑菌作用和机制,大致可分为直接和间接抑制作用。直接抑制作用包括消除或逆转细菌耐药质粒、抑制细菌 β -内酰胺酶活性和外排泵、改变细胞膜的通透性与消除生物膜等。间接抑制作用主要是:中成药通过提高机体免疫力对抗耐药性细菌。有文献报道^[20-22],许多中药有抑菌作用,如黄芩、黄连、连翘、五倍子、五味子、乌梅、金银花等 57 种,中成药包括黄连上清片、穿心莲内酯胶丸、妇必舒胶囊等。有些中药的抗菌作用机制不是单一的,而是能够在多个方面发挥作用,所以药典常见中和剂或灭活方法(见表 1),是否能满足、何种浓度能满足有抑菌成分中成药的计数法检验要求尚待研究。

表 1 《中国药典》2020 版常见干扰物的中和剂或灭活方法^[1]

干扰物	可选用的中和剂或灭活方法
戊二醛、汞制剂	亚硫酸氢钠
酚类、乙醇、醛类、吸附物	稀释法
醛类	甘氨酸
季铵化合物、对羟基苯甲酸、双胍类化合物	卵磷脂
季铵化合物、碘、对羟基苯甲酸	聚山梨酯
水银	巯基醋酸盐
水银、汞化物、醛类	硫代硫酸盐
EDTA、喹诺酮类抗生素	镁或钙离子
磺胺类	对氨基苯甲酸
β -内酰胺类抗生素	β -内酰胺酶

2 优化中成药前处理的方法

陶明等^[23] 和黄梅等^[24] 发现,影响抑菌干混悬剂微生物限度方法适用性的因素主要是样品原料的分散性和中和剂的有效单位。对药品进行微生物限度计数法前处理的目的是在生物样本安全的前提下,通过前处理使被检样品成为均匀的溶液或悬浊液,保证取样的均匀性。吸取供试液时,既可保证液体分散均匀,又可避免只吸取上清液或沉淀物,还可防止被检样品溶散不均造成制备液 pH 值不同而形成结果偏倚^[4,7,25]。优化中成药前处理的方法有利于最终选取合适的检验方法(常规、稀释、中和、薄膜过滤法)消除样品的抑菌性,取得科学、准确的实验结果。

2.1 减小被检样品的粒度

中成药大致分为口服和外用两种使用方式,口服剂型大多为片剂、胶囊、丸剂等。无论中成药成分多复杂,减小被检样品的粒度从而增加样品的溶

解度和分散度都是较佳选择。最直接减小被检样品的粒度方法就是提高匀浆效率。《中国药典》2020 版对前处理匀浆的转速没有特别规定,而《食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定》(GB4789.2-2020)中规定检测样品的匀浆转数常规为 8 000 ~ 10 000 r/min,持续 1 ~ 2 min^[26-27]。有研究^[28] 分别用匀浆仪和研磨法对 9 种丸剂和 3 种片剂进行前处理,从各组实验所得的细菌数平均值来看,匀浆法测定的细菌数大于研磨法,并呈显著性差异,如槐角丸、益肝丸、通窍鼻炎片在研磨时菌落数为 4.0×10^2 、 2.7×10^3 、 2.9×10^2 CFU/g,经均质器细匀后菌落数为 8.7×10^2 、 3.4×10^4 、 6.4×10^2 CFU/g,说明样品均质的细腻均匀可提高细菌检出率。庞云娟等^[29] 报道,供试液制备过程中被检样品分散度和溶解度不足是造成实验结果偏离的原因之一。以上研究表明适当提高匀浆效率可增加样品的分散度和溶解度,进而提高细菌检出率以达到提升检验准确度的目的。均质器转速和时间可参考食品菌落总数检测标准。

2.2 选择 pH 7.2 的磷酸盐缓冲溶液体系

磷酸盐缓冲溶液可以通过 $H_2PO_4^-$ 和 HPO_4^{2-} 在不同的 pH 下形成缓冲体系。当 $H_2PO_4^-$ 和 HPO_4^{2-} 的浓度比为 1 : 1 时,此时溶液的 pH 值为 6.86,也被称为磷酸盐缓冲液的电中性点。在电中性点的 pH 值下,磷酸盐缓冲溶液的缓冲能力最弱。随着 pH 值的升高, $H_2PO_4^-$ 的浓度逐渐降低,溶液的缓冲能力逐渐增强。当 pH 值升到 7.21 时, $H_2PO_4^-$ 和 HPO_4^{2-} 的浓度比为 1 : 2,此时溶液的缓冲能力最强,称为磷酸盐缓冲溶液的最大缓冲范围。随着 pH 值的继续上升, HPO_4^{2-} 的浓度逐渐升高, $H_2PO_4^-$ 的浓度逐渐降低,溶液的缓冲能力逐渐减弱。磷酸盐缓冲溶液的缓冲范围在 pH 值 5.8 ~ 8.0 之间,这个范围是根据 $H_2PO_4^-$ 和 HPO_4^{2-} 的浓度比和 pH 值的关系所确定的,并且在 pH 值 7.21 左右,具有最大的缓冲能力^[30],故 pH 7.2 的磷酸盐缓冲溶液最适合中成药的前处理。

2.3 选取合适的表面活性剂浓度

许多中成药含抑菌成分,通过添加表面活性剂吐温-80,可提高非水溶性成分在稀释剂中的溶解度和分散度。有研究表明^[31-32],添加表面活性剂的效果优于调节 pH 值,因为当药品含有抑菌性成分时,降低 pH 值会增加药品的抑菌性。为方便分析中成药的抑菌性,将中成药分为以下几类:①清热解毒类中成药,常含有板蓝根、黄芩、金银花等,有较强抑菌能力;②止咳平喘类中成药,若含有麻黄、

川贝母、薄荷脑等成分,抑菌性也较强;③胃肠道类中成药,如含有广藿香、紫苏叶等成分的药物也有较强的抑菌作用;④抗感冒类药,多含有金银花、甘草、柴胡等中药,抑菌性较强;⑤妇科内服类中成药,抑菌性比外用药弱;⑥镇痛抗炎外用中成药,如含有黄柏对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌有抑制作用^[33]。欧洲药典 11.0 对有抑菌作用的药品选用含 3% 聚山梨脂 80 和 0.3% 蛋黄卵磷脂缓冲液^[10],既能增加被测样品的分散度和溶解度,又能中和药品本身的抑菌成分,同时又可增加样品中细菌的检出率^[19]。

2.4 选取合适的稀释液

既满足方法适应性菌株的回收率要求,又能提高样品溶解度和悬浊液的稳定性,是优化前处理过程的关键。稀释液在前处理过程中起着重要作用,一方面需要最大程度提供各类菌株的生存条件,另一方面要易于药品的溶解和分散。《中国药典》2015 年版药品微生物限度检查方法实例中有介绍,保济丸在微生物限度计数检验选用了两种稀释液,先用胰酪大豆液体培养基将被检样品制成 1:100 的供试液,再取上清液薄膜过滤,并用含 0.1% 吐温-80 的 pH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液冲洗滤膜^[34]。前者可提高菌株回收率,后者可增加溶解和分散。另有研究^[35]表明,参考《中国药典》使用标准菌株进行化妆品微生物指标检验的供试液制备,研究不同的前处理方法的适用性结果显示,使用含中和剂的大豆酪蛋白葡萄糖卵磷酯吐温-80(SCDLP)液体培养基、改良卵磷脂肉汤、戴伊恩格利中和肉汤(D/E 中和肉汤)制备供试液,加菌计数回收试验结果及控制菌(耐热大肠菌群、铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌)阳性检出率,均优于按照《化妆品安全技术规范》(2015 年版)用生理盐水制备供试液,其中,采用 D/E 中和肉汤进行样品制备,对样品中防腐剂的中和效果最好。

3 小结与展望

《中国药典》2020 年版要求生产厂家进行一厂、一品、一规的微生物限度标准制订和验证实验,验证报告要完整、可靠。作为药品检验机构,由于检验周期受限,实际抽检工作中不可能像生产厂家一般去一一验证。因此,分析研究中成药这一大类非无菌药品计数法检验的特点,优化检验过程,特别是样品前处理方法是检验中成药的关键环节。中成药成分多为动植物和矿物质,使用计数法前处理时难以简单用溶解度分类,往往同一种药品

各实验室选择不同的检验方法,导致检验结果差异加大。且中药炮制工艺的多样性使中成药的酸碱度范围宽泛,如果药品前处理时稀释液的缓冲能力不强,会影响后续培养基的酸碱度,进而影响检验结果的准确性。有些中成药本身具有抑菌性,若不中和或去除会造成假阴性结果。

上述因素直接影响中成药计数法的检出率和准确度,寻找一种分散度和溶解度好,缓冲力强且能中和药品抑菌性,又对受损细菌有修复力的缓冲液显得尤为迫切。本文从影响中成药计数法的检验因素入手,层层分析寻找解决方案。综合《中国药典》和欧美药典以及相关文献内容归纳解决的途径有:①在稀释液中加入适宜的非离子表面活性剂吐温-80 和卵磷脂(如 3% 吐温-80 和 0.3% 卵磷脂)等中和剂,可以起到增加药品分散度和溶解度,并中和部分抑菌性的作用;②通过增加适宜浓度的磷酸盐缓冲离子对($H_2PO_4^-$ 和 HPO_4^{2-}),使缓冲液达到最大缓冲能力,降低中成药因偏酸或偏碱对培养基的影响;③增加缓冲液中生长因子和维生素,利于受损细菌的快速恢复;④增加抗氧化物质使细菌能抵抗药物的冲击;⑤选择合适的匀浆速度和时间,在适宜剪切力的作用下,使缓冲液和被检样品充分混和均匀。

随着课题研究进一步深入,最终可创新出一款可加强分散度和溶解度、提高取样均匀性、降低中成药抑菌性、加强缓冲能力、加强短时间修复受损细菌能力的改良缓冲液,以提高中成药计数法检验结果的准确性、重复性及工作效率,解决中成药计数法检验中遇到的诸多问题。为监测中成药计数法这类非无菌制剂的安全性和有效性提供现实的应用价值。

【参考文献】

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)2020 年版 [S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 160-165.
- [2] 余凡, 许占鸽. 药品微生物限度检验误差的影响因素及应对策略 [J]. 中国卫生标准管理, 2018, 9(18): 100-102.
- [3] 刘金凤. 分析药品微生物限度检验误差影响因素 [J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(2): 188-189.
- [4] 康淑涛. 药品微生物限度检验误差的影响因素分析 [J]. 基层医学论坛, 2018, 22(29): 4180-4181.
- [5] 达朝荣, 陈建强. 药品微生物限度检验误差影响因素分析 [J]. 北方药学, 2016, 13(1): 177-178.
- [6] 张志红. 药品微生物限度检验中的误差影响因素 [J]. 中国社区医师, 2016, 32(29): 14-15.
- [7] 徐莲花. 药品微生物限度检验误差影响因素分析 [J]. 中国卫生产业, 2017, 14(15): 42-43.

(下转第 409 页)

- [J]. 中国现代医药杂志, 2020, 22(8): 80-82.

[21] 孙雪, 宋浩静, 郭彩会, 等. 信息化系统对药物临床试验质量的影响 [J]. 中南药学, 2019, 17(6): 937-940.

[22] 黄义昆, 毛晓丽, 李红梅, 等. 临床试验用药品的中心化管理 [J]. 中国医药科学, 2021, 11(18): 228-230.

[23] 袁婷婷, 余自成, 杜静, 等. 药师在药物临床试验中的角色与定位 [J]. 中南药学, 2021, 19(3): 553-556.

(上接第 376 页)

- [8] 李超美.全省9个地市药检所对中成药香莲丸微生物限度检查结果的研讨 [J]. *海峡药学*, 2010, 22(12): 78-80.

[9] 解慧, 刘洪祥, 杨倩, 等.《美国药典》(USP42-NF372S)通则药品微生物回收的验证 [J]. *中国药品标准*, 2020, 21(2): 146-149.

[10] European Pharmacopoeia Commission. European Pharmacopoeia (EP) [S]. 11th ed. Strasbourg: Council of Europe, 2022. General Chapter 2.6.12: Microbiological examination of non-sterile products: microbial enumeration tests, pp. 217-221.

[11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)2020年版 [S].北京:中国医药科技出版社, 2020.

[12] 玛尔江·木坎, 萨丽塔娜提·居努斯.影响微生物限度检查及方法验证的影响因素 [J]. *新疆畜牧业*, 2016, (6): 36-37.

[13] 杜靓, 王伟, 孙晓丽.表面活性剂在药学中的应用 [J]. *疾病监测与控制*, 2011, 5(5): 280-282.

[14] 周雅文, 刘金凤, 贾美娟, 等.表面活性剂的性能与应用(X X IV): 表面活性剂在医药中的应用 [J]. *日用化学工业*, 2015, 45(12): 670-673,679.

[15] 赖冬敏, 郑学成.表面活性剂对采油菌生长的影响 [J]. *四川化工*, 2023, 26(2): 10-15,30.

[16] 石晶金, 方溢文, 官妍.三种表面活性剂对表皮葡萄球菌生物膜渗透性及成膜关键基因 agr 表达的影响 [J]. *中国感染控制杂志*, 2023, 22(3): 267-274.

[17] 王康, 赵彤, 何志敏.穿心莲内酯固体分散体的制备及体外溶出实验 [J]. *中国现代应用药学*, 2009, 26(8): 638-641.

[18] 高飞, 张庆生, 崔生辉, 等.卵磷脂和吐温80中和化妆品中防腐剂及影响细菌生长研究 [J]. *环境与健康杂志*, 2012, 29(11): 1023-1025.

[19] 张光华, 余立.聚山梨酯80和卵磷脂在化学药微生物限度检查时的中和作用 [J]. *药物分析杂志*, 2008, 28(7): 1127-1130.

[20] 彭坤, 杨毅.中药抗耐药性细菌研究文献回顾性分析 [J]. *中医研究*, 2018, 31(12): 59-63.

[21] 廖艳梅, 李小芳, 刘罗娜, 等.纳米乳液在中药制剂领域的研

- [24] 周心娜, 王淑梅, 谢铮铮, 等. 临床试验用药物的质量控制 [J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 5(12): 1306-1307.

[25] 杨忠奇, 赖育健, 吴波林, 等. 药物临床试验 药物管理·广东共识(2014年)[J]. 今日药学, 2015, 1(2): 75-76.

[收稿日期] 2024-04-11 [修回日期] 2024-09-18

[本文编辑] 蔺森

- 究进展 [J]. 中药与临床, 2019, 10(2): 50-56.

[22] 翟贯星, 陆璐, 陈代杰, 等. 中药化合物的抗菌及增效作用 [J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(12): 1366-1370.

[23] 陶明, 杨淑先, 周艳梅. 进口与国产头孢克洛干混悬剂的微生物限度检查方法及影响因素分析 [J]. 中国药物评价, 2019, 36(6): 423-426.

[24] 黄梅, 谭余庆, 罗俊, 等. 植物类中药抗细菌耐药性的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(23): 218-224.

[25] 赵美荣. 表面活性剂在增加药物溶解性方面的应用及发展趋势 [J]. 企业科技与发展, 2013, (14): 28-29.

[26] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定: GB4789.2-2022[S]. 北京: 中国标准出版社, 2022.

[27] 马群飞, 林坚. GB 4789.2-2016《菌落总数测定》应用现状 [J]. 海峡预防医学杂志, 2021, 27(5): 79-81.

[28] 冯慰民, 史月霞. 两种制备供试液的方法对细菌数检测的比较 [J]. 华西药学杂志, 2001, 16(2): 156-157.

[29] 庞云娟, 樊文研, 刘康连, 等. 药品微生物限度检查方法学验证的研究进展 [J]. 中成药, 2017, 39(10): 2137-2140.

[30] 刘晓莉, 张颖, 梁萍, 等. 复杂组成缓冲溶液 pH 值的讨论 [J]. 山东化工, 2023, 52(4): 29-31.

[31] 张光华, 李玉立, 刘文杰, 等. 阿法替尼和塞瑞替尼微生物限度检查方法验证 [J]. 中国药业, 2020, 29(17): 55-59.

[32] 俞虹, 寿文虹, 蒋玉芳, 等. 非水溶性抗生素原料的微生物限度检查方法及验证 [J]. 中国现代应用药学, 2006, 23(5): 394-396.

[33] 曾璞. 中成药微生物限度方法学研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2019.

[34] 罗卓雅. 《中国药典》2015 年版药品微生物限度检查方法实例 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 82-83.

[35] 王涛, 李雪玲, 农浚, 等. 中和剂对化妆品微生物指标检测结果的影响 [J]. 广东化工, 2022, 49(20): 210-211.

[收稿日期] 2024-03-11 [修回日期] 2024-09-27

[本文编辑] 李春德