

18 种中成药污染细菌的回收率试验

★ 应国红 (广东省深圳市药品检验所 深圳 518029)

摘要:目的:对部分中成药品种的微生物限度检查法进行方法验证,为规范中成药微生物限度检查方法提供科学依据。方法:对 18 种中成药人为细菌污染后再进行细菌的回收率测定,从而确认其抑菌活性。结果:18 种中成药中只有 7 种细菌回收率高于 70%,符合验证试验要求,其余 11 种中成药都不同程度地存在抑菌现象,回收率均低于 70%,不符合验证试验要求。结论:复方鲜竹沥液等 7 种中成药可按常规方法,其余应用培养基稀释或离心集菌过滤等方法进行微生物限度的细菌学检查。

关键词:中成药;微生物限度检查法;验证试验

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

中成药常常是含有多种成分的复合制剂,由于其成分的复杂性,许多药物常因含有一定的抑菌成分而影响其微生物限度检查结果的可靠性。根据药典会药典业发[93]号文件的精神,对药品中污染的微生物回收率应进行再确认,为此,本实验室对复方鲜竹沥液等 18 种中成药人为细菌污染后再进行细菌的回收率测定,以确认这几种中成药的抑菌活性从而为评价该药物微生物限度检查方法的可靠性提供科学依据。

1 材料

1.1 中成药 复方鲜竹沥液(杭州天目山药业股份有限公司,批号 20040606),小柴胡颗粒(四川逢春制药有限公司,批号 040406),更衣胶囊(贵州益佰药业制药有限公司,批号 040402),肾石通冲剂(湖南三九南开制药有限公司,批号 20040904),慈丹胶囊(金陵药业股份有限公司福州梅峰制药厂,批号 040901),感冒康胶囊(厦门金日制药有限公司,批号 040401),血塞通片(云南特安呐制药股份有限公司,批号 040723),牛黄解毒片(江西汇仁药业有限公司,批号 0405011),三黄片(陕西白云制药有限公司,批号 040701),上清丸(广东明珠药业有限公司,批号 0404014),众生丸(广东众生药业股份有限公司,批号 040901),鼻炎片(武汉中联药业集团股份有限公司,批号 040902),元胡止痛片(佛山德众药业有限公司,批号 04005),炎可宁片(吉林省银象药业有限公司,批号 20030602),三七片(广州市花城制药厂,批号 20040301),咽炎片(三九黄石制药总厂,批号 040603),咳特灵胶囊(广州白云山制药股份有限公司广州白云山制药总厂,批号 0403023),精制银翘解毒片(利川香连药业有限责任公司,批号

040502),来自深圳市各医药公司及部分医院。

1.2 试验菌种 大肠埃希菌 CMCC(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)均来自中国药品生物制品检定所。

1.3 培养基 营养琼脂培养基、营养肉汤培养基均来自中国药品生物制品检定所。

1.4 稀释剂 0.9%灭菌氯化钠溶液。

1.5 培养皿、吸管、试管 临用前均于 121℃灭菌 20 分钟。

2 方法

2.1 菌液制备 分别取大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌及枯草杆菌 37℃ 18~24 小时肉汤培养物 1 mL + 9 mL 0.9% 灭菌氯化钠溶液 10 倍稀释后,再稀释至 10^{-6} ~ 10^{-7} (50~100 个细菌/mL),备用。

2.2 供试液制备 按《中国药典》一部附录制备成 1:10 的供试液,备用。

2.3 试验组 取 1:10 的供试液 1 mL 入平皿,再加入 1 mL 试验菌后立即倾注溶化后凉至 45℃ 的营养琼脂培养基 15~20 mL,平行制备 2 个平皿,待凝固后于 30~35℃ 倒置培养 48 小时,计数菌落数。

2.4 菌液组 取试验菌 1 mL,注入平皿后按上述方法培养并计数菌落数。每种试验菌均做两份平行试验。

2.5 供试品对照组 取 1:10 的供试液 1 mL,分别注入 2 个平皿后按上述方法计数供试品本底菌落数。

2.6 稀释剂对照组 取 0.9% 灭菌氯化钠溶液各 1 mL,分别注入 2 个平皿后再加入 1 mL 试验菌,以后按上述方法培养并计数菌落数。

2.7 菌回收率计算 试验菌的菌回收率(%)=(试验组平均菌落数-供试品对照组平均菌落数/菌液组平均菌落数)×100%

稀释剂对照组菌回收率(%)=(稀释对照组平均菌落数/菌液组平均菌落数)×100%

2 结果

稀释剂对照组菌回收率分别是:大肠杆菌 98.9%,金黄色葡萄球菌 96.6%、枯草杆菌 91.3%,均不低于 70%,符合验证试验要求。18 种中成药菌回收率见表 1。对于大肠杆菌的菌回收率,除牛黄解毒片、炎可宁片低于 70%,不符合验证试验要求外,其余菌回收率均高于 70%,符合验证试验要求。对于金黄色葡萄球菌的菌回收率,感冒康胶囊、血塞通片、牛黄解毒片、三黄片、上清丸、众生丸、元胡止痛片、炎可宁片均低于 70%,不符合验证试验要求;其余菌回收率均高于 70%,符合验证试验要求。对于枯草杆菌的菌回收率,肾石通冲剂、血塞通片、牛

表 1 13 种中成药大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌的回收率测定结果

药名	大肠杆菌 (%)	金黄色葡萄球菌 (%)	枯草杆菌 (%)
复方鲜竹沥液	93.1	89.2	78.2
小柴胡颗粒	97.4	81.1	75.5
更衣胶囊	99.2	98.2	98.5
肾石通冲剂	99.8	82.9	56.9
慈丹胶囊	95.9	75.4	75.3
感冒康胶囊	94.2	41.9	99.7
血塞通片	74.4	55.6	22.5
牛黄解毒片	64.9	0	0
三黄片	73.3	0	0
上清丸	98.4	0	0
众生丸	80.6	64.2	20.4
鼻炎片	99.6	90.4	58.3
元胡止痛片	99.8	0	77.4
炎可宁片	28.5	0	36.9
三七片	90.7	91.2	76.8
咽炎片	76.7	90.5	64.9
咳特灵胶囊	99.8	97.6	99.8
精制银翘解毒片	99.4	97.2	94.0

黄解毒片、三黄片、上清丸、众生丸、鼻炎片、炎可宁片、咽炎片均低于 70%,不符合验证试验要求;其余菌回收率高于 70%,符合验证试验要求。

3 讨论

中成药的微生物限度检查通常是按常规的药品卫生学检验方法计数细菌总数的^[1],但事实上由于中成药常常是含有多种成分的复合制剂,其中如含有任何抑菌成分就会影响其微生物限度检查结果的准确性^[2,3]。从本实验可以看出,以上 18 种中成药中,除牛黄解毒片、炎可宁片外,其余对大肠埃希菌无抑菌作用;但感冒康胶囊、血塞通片、牛黄解毒片、三黄片、上清丸、众生丸、元胡止痛片、炎可宁片均对金黄色葡萄球菌有不同程度的抑菌作用;肾石通冲剂、血塞通片、牛黄解毒片、三黄片、上清丸、众生丸、鼻炎片、炎可宁片、咽炎片则对枯草杆菌存在抑菌现象,其中牛黄解毒片、三黄片、上清丸、元胡止痛片、炎可宁片上的金黄色葡萄球菌,牛黄解毒片、三黄片、上清丸上的枯草杆菌甚至完全不能生长,表明这些药物中含有对这些细菌抑菌作用较强的成分,所以如果仍然按照常规的方法检查,那么存在于药物中的以金黄色葡萄球菌、枯草杆菌为代表的革兰阳性球菌及芽孢杆菌就可能不能生长而得出假阴性的结果。从本试验可以看出,18 种中成药中只有 7 种中成药菌回收率高于 70%,符合验证试验要求,可以用常规方法检查药品中的细菌数是否符合标准。其余 11 种菌回收率均低于 70%,不符合验证试验要求,应用培养基稀释或离心集菌过滤等方法进行微生物限度的细菌学检查。

参考文献

- [1]药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京:化工出版社,2000. 附录 72
- [2]陆蓓. 冰硼散、足光粉金黄色葡萄球菌检验方法的探讨[J]. 中成药,2000,22(6):417
- [3]别小琳,刘华. 藿香正气水微生物限度检查法的改进[J]. 中成药,2000,22(7):524

(收稿日期:2005-03-07)

《江西中医药》征订启事

《江西中医药》创刊于 1951 年,是新中国创办最早的中医药杂志,也是第一批进入中文核心期刊的中国医药类核心期刊,并被多家知名权威检索期刊及数据库确定为固定信息源。五十多年来,《江西中医药》发表了数以万计的优秀论文,一大批中医药学者就是从这里走向成功、走向成名的。21 世纪,《江西中医药》迎来的更大的发展机遇,2002 年评为华东地区优秀期刊、江西省优秀期刊,2004 年评为全国高校优秀期刊。2003 年成功改为月刊,赢得了更多读者的青睐。本着“面向临床,面向基层,坚持传统,注重实用”的办刊思路,我们进一步充实内容,调整栏目,使文章更具可读性、实用性、信息性,以满足读者的需要。

《江西中医药》(ISS 0411-9584,CN 36-1095/R)为月刊,面向国内公开发刊。国内邮发代号为 44-5,国外代号为 BM1012。每期定价:4.80 元。