

银翘清感颗粒微限检查法适用性试验研究

刘宝珠 孙赫政

(天津市药品检验研究院宝坻药品检验所 天津 301800)

【摘要】目的:研究银翘清感颗粒的微限检验方法。方法:需氧菌计数和霉菌及酵母菌计数供试品采用1:20浓度的稀释法和平皿法联用,控制菌检查采用常规法。结果:试验菌株回收比值均在0.5~2范围内,控制菌检查符合规定。结论:本方法简便易行,重复性好,可用于银翘清感颗粒的微限检查。

【关键词】银翘清感颗粒,微限检查

Study on the applicability of the microlimit test method

Liu Baozhu, Sun Hezheng

(Baodi Institute of Drug Control, Tianjin Institute of Drug Control, Tianjin 301800)

[Abstract] Objective: To study the method of microlimit. Methods: Oxybacteria count and mold and yeast count test articles were combined by 1:20 concentration dilution method and plate method. Results: The test strain recovery ratio was within the range of 0.5 to 2, and the control bacteria inspection met the requirements. Conclusion: This method is simple and reproducible and can be used for the examination of Aparticles.

[Key words] silver warping clear sense particles, micro limit check

银翘清感颗粒由金银花、连翘等多味中药组成,是在传统古方银翘散基础上,自主研发的中药复方制剂。具有疏风解表、清热解毒功效,用于风热感冒,症见发热头痛、咳嗽口干、咽喉疼痛^[1]。银翘清感颗粒是天津市医科大学第二附属医院的医院制剂。医院制剂是医疗机构根据本单位临床需要批准而配制的,自用的固定处方制剂^[2]。院外患者需求量不大,不太适合工厂批量生产。但具有服用方便,疗效确切,不良反应少,安全性好的优点,在临床上发挥不可替代的作用。影响药品质量的因素有许多种,微生物限度是控制药品质量和保证用药安全的一项重要指标。金银花、连翘的有效成分对多种细菌显示不同程度的抑制作用^[3],具有显著抗菌活性。而这种抑菌作用会影响微生物方法适用性试验对五种典型菌株的实验结果,为了防止试验假阴性的出现,先去除

其抗菌活性,再进行下一步试验。

1. 实验材料及仪器

1.1 仪器及耗材 生物安全柜(海尔 HR40-IIA2),高压蒸汽灭菌器(上海博讯 BXM-50VE),培养箱(上海博讯 BXP-280S),培养箱(上海博讯 BXS-150S),电热恒温干燥箱(上海博讯 BXH-1305)。

1.2 供试样品 银翘清感颗粒(规格:每袋装 6g,天津市医科大学第二附属医院,批号 230501,230502,230503)

1.3 试验菌株

菌种	枯草芽孢杆菌	铜绿假单胞菌	金黄色葡萄球菌	白色念珠菌	黑曲霉	大肠埃希菌
编号	CMCC (B) 63 501	CMCC (B) 10 104	CMCC (B) 26 003	CMCC (F) 98 001	CMCC (F) 98 003	CMCC (B) 44 102

培养基	胰酪大豆胨琼脂	沙氏葡萄糖琼脂	胰酪大豆胨液体(TSB)	麦康凯液体	沙氏葡萄糖液体	麦康凯琼脂
批号	221213	230109	220223	230323	220517	230103

菌株	金黄色葡萄球菌	枯草芽孢杆菌	大肠埃希菌	铜绿假单胞菌	白色念珠菌	黑曲霉
温度时间	32.5℃ 24 小时	32.5℃ 24 小时	32.5℃ 24 小时	32.5℃ 24 小时	22.5℃ 2 天	22.5℃ 7 天

培养基 胰酪大豆胨琼脂 胰酪大豆胨琼脂 胰酪大豆胨琼脂 胰酪大豆胨琼脂 沙氏葡萄糖琼脂 沙氏葡萄糖琼脂
均来源于中国食品药品检定研究院。
1.4 培养基
均由北京陆桥技术股份有限公司生产。
液制成含菌数约 50~100cfu/ml 的混悬液;其中黑曲霉新鲜培养物先用加入含吐温-80(含 0.05% (ml/ml))的缓冲液将孢子洗脱,再用此缓冲液制成含菌数约 50~100cfu/ml 的混悬液^[4]。

2. 方法及结果

2.1 菌液的制备

取上述新鲜培养物,用 pH7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲

2.2 供试液的制备

取每批样品 10g,分别加入 TSB 100ml,混匀,作为 1:10 供试液①,再进一步稀释制成 1:20 供试液②。

2.3 验证实验

2.3.1 常规法及试验结果

需氧菌检查 试验组：取①9.9ml，加入 0.1ml 试验菌株，制成菌含量不大于 100cfu/ml 的供试液，取 1ml 至平皿中倾注胰酪大豆胨琼脂培养基。菌液对照组：加入相应的试验菌株，同法操作；供试品对照组：加入供试液 1ml，重复上述操作。霉菌及酵母菌检查倾注沙氏琼脂培养基，同法操作。

ChP2020 规定：试验组比值=(试验组菌落总数-供试品对照组菌落数) / 菌液对照组菌落数 应在 0.5~2 范围内符合规定。

常规法 3 批样品黑曲霉试验回收比值约为 0.40，枯草芽孢杆菌回收比值约为 0.27，均没有达到要求。实验结果见表 1。

2.3.2 稀释法与平皿法联用及试验结果

取②重复上面试验操作，实验结果见表 2、表 3，五种试验菌回收比值均在 0.5~2.0 之间，符合规定。由结果分析，此样品需氧菌计数和霉菌及酵母菌计数均可采用稀释法与平皿法联用。

表 1 常规法需氧菌试验结果

菌株	样品	试验组 (cfu)		菌液对照组 (cfu)		供试品对照组 (cfu)		试验组比值
		1	2	1	2	1	2	
枯草芽孢杆菌	230501	15	17	58	60	0	0	0.27
	230502	17	16	58	60	0	0	0.28
	230503	17	15	58	60	0	0	0.27
黑曲菌	230501	34	37	83	85	0	0	0.42
	230502	36	32	83	85	0	0	0.40
	230503	32	35	83	85	0	0	0.40

表 2 稀释法霉菌及酵母菌试验结果

菌株	样品	试验组 (cfu)		菌液对照组 (cfu)		供试品对照组 (cfu)		试验组比值
		1	2	1	2	1	2	
白色念珠菌	230501	56	58	68	68	0	0	0.84
	230502	56	57	69	67	0	0	0.83
	230503	61	56	68	66	0	0	0.87
黑曲菌	230501	82	78	93	98	0	0	0.84
	230502	81	86	92	96	0	0	0.89
	230503	81	85	93	95	0	0	0.88

表 3 稀释法需氧菌试验结果

菌株	样品	试验组 (cfu)		菌液对照组 (cfu)		供试品对照组 (cfu)		试验组比值
		1	2	1	2	1	2	
金色葡萄球菌	230501	58	56	56	58	0	0	1.00
	230502	58	55	60	56	0	0	0.97
	230503	60	57	60	57	0	0	1.00
绿脓假单胞菌	230501	66	68	60	58	0	0	1.14
	230502	62	66	56	56	0	0	1.14
	230503	65	68	65	60	0	0	1.06
枯草芽孢杆菌	230501	75	74	58	52	0	0	1.35
	230502	78	75	60	64	0	0	1.23
	230503	78	76	58	63	0	0	1.27
白色念珠菌	230501	60	62	56	58	0	0	1.07
	230502	60	65	56	56	0	0	1.12
	230503	58	62	56	53	0	0	1.10
黑曲菌	230501	93	90	82	79	0	0	1.14
	230502	96	94	83	85	0	0	1.13
	230503	98	95	80	83	0	0	1.18

	制备	结果
供试品对照组	①10ml+100mlTSB	阴性
试验组	①10ml+1ml 大肠埃希菌 (50~100cfu/ml) +100mlTSB	阳性
阳性菌对照组	1ml 大肠埃希菌 (50~100cfu/ml) +100mlTSB	阳性
阴性对照组	100mlTSB	阴性

2.4 控制菌检查方法及结果

按照 ChP2020 四部通则规定进行试验。由结果可知，此方法可行。

1. 药品微生物限度检查是用于检测药品受微生物的污染程度。此检查应在洁净度万级下的百级单向流环境中进行，全程应严格无菌操作^[4]。微生物限度是确保人民用药安全的重要手段。我国 2000 年药典只增收了微限标准，到 2005 年对有抑菌作用的品种，规定可采用培养基稀释法，薄膜过

3. 讨论

滤法,离心沉淀法和中和法对供试品进行处理^[5]。2010年药典进一步完善,当试验组菌落数减去供试组菌落数的值与菌液组菌落数的百分比不低于70%时符合规定,若低于70%时,可用以上四种方法。然而2015年药典把计算比值结果修改到0.5-2.0范围内符合规定,若小于0.5则可采用方法中去掉了离心沉淀法。经过标准的多次修改,不断完善,为药品检验工作提供重要依据,为保证人民用药安全提供了强有力的保障。

2 银翘清感颗粒含金银花、连翘等成分,其中金银花含有绿原酸,此成分具有较强的抗菌、抗病毒作用^[6]。连翘可作为广谱抗菌药物,也具有很强的抗菌活性^[9]。但试验结果

表明此医院制剂对五种试验菌株抑制作用并没有我们分析的那么大。主要是因为一方面外界因素:包括在生产过程中空气,水分,光线对药物作用;另外一方面是内因:中药制剂成分比较复杂,各成分之间在煎煮、提纯等过程中的相互配伍作用。使此实验用稀释法和平皿法联用就能达到去除药物的抗菌活性的目的。稀释法通过对抑菌成分的稀释从而减弱药品的抑菌活性^[10],平皿法操作简单,成本低,方法成熟可靠,没有必要采用操作较复杂且成本较高的中和剂法和薄膜过滤法。因此银翘清感颗粒微限检查法适用性试验研究采用稀释法与平皿法联用是最佳方案。

参考文献:

- [1]杨兆丽,何家靖,周娴,杨家庆,张美义. HPLC法同时测定银翘清感片中牛蒡苷和连翘苷[J]. 中成药,2013,35(7):1472-1475.
 - [2]国家食品药品监督管理局. 国家食品药品监督管理局令 第20号 医疗机构制剂管理办法(试行)[S].2005
 - [3]潘竞铨等. 银翘散浓缩袋泡剂抗炎 解热 镇痛 抗菌和抗病毒作用[J].广东药学,2003,1:43-47.
 - [4]中国药典[S].四部2020:通则161-167.
 - [5]薛坤.我国微生物限度检查方法验证研究概况[J].中国城乡企业卫生,2008,4(2):91-93
 - [6]范红春.中药金银花的药用成分及临床分析[J].数理医药学杂志,2015,28(3)407-408
 - [7]张伟金.银花药理作用综述[J].内蒙古中医药,2015,5:153-154
 - [8]张海燕.金银花的药理成分及药理分析[J].海峡药学,2017,29(4):46-47
 - [9]夏伟,董诚明,杨朝帆,等.连翘化学成分及药理作用研究进展[J].中国现代中药,2016,18(12):1670-1674
 - [10]闵红,杨晓莉,李翠,等.阿莫西林胶囊微生物检查方法学研究[J].中国抗生素杂志,2019,42(2):218-223.
- 作者简介:刘宝珠,(1980.01),女,天津宝坻,汉族,本科,药师,药学检验。

上接第59页

肋骨形态呈斜形弓状弯曲,因为特殊的构造形式,所以常规胸部后前位片难以精准反映患者肋骨部位的全部信息,可能会对医生进行判断造成干扰。DR双能量减影技术通过碘的合理运用,获得无软组织结构重叠的影像资料,更易反映患者胸部肋骨部位的信息,对医生掌握受检者胸部状况有利。通过本次研究得到的数据,可以发现DR双能量减影技术在胸部外伤诊断中,可获得相对清晰的图像,利于医生对患者病情做出可靠的评估,同时可快速编制治疗方案,避免因病情掌握不足出现延误的问题。确定DR双能量减影技术应用价值的基础上,还需要对该技术在使用中的操作方式进行控制,避免因部分因素的干预,降低检测技术的有效性。

在控制台上,需要根据实际情况进行选择,获得适当的患者体型参数。高KVp值和低KVp值的选择,主要根据检查部位厚度以及患者体型进行。在曝光前必须向患者进行说明,不能在曝光阶段呼吸或移动,否则将会影响到检测的精准性,难以保证影像资料的可靠性,不便于对患者病情做出可靠的判断。

综上所述,DR双能量减影技术在临床诊断领域占据一席之地,可以对胸部后前位进行检测,获得相对清晰的影像资料,做出肋骨骨折的判断,同时也可以成为治疗方案编制的重要依据,提高对胸部外伤患者治疗活动的有效性,通过影像资料掌握患者骨折部位以及周边的情况,结合胸部后前位片判断患者是否患上并发症,拥有较高的临床应用价值。

参考文献:

- [1]邹海波,陈延.胸部DR摄影的双能量减影技术的应用分析[J].影像研究与医学应用,2020,4(15):76-78.
- [2]黄柱飞,商雪林,莫春开,门造,王耀华. DR双能量减影技术在胸部摄影中的应用进展[J].西南国防医药,2014,24(08):913-914.
- [3]李艳秋. DR双能量减影在肋骨骨折中的应用价值[J].影像技术,2014,26(01):15-17.
- [4]黄扬.数字化X线摄影双能量减影在胸部外伤诊断中的临床价值[J].临床医药实践,2013,22(09):673-674.
- [5]葛浩军. DR与螺旋CT检查外伤性肋骨骨折临床价值分析[J].医学影像学杂志,2013,23(04):652-653.
- [6]周国永,张翠禄,李伟钦. DR双能量数字减影在胸、肺部疾病诊断中的价值[J].求医问药(下半月),2012,10(12):375-376.
- [7]潘自树. DR双能量减影在胸部外伤诊断中的应用[J].中国卫生产业,2012,9(22):126.
- [8]白得森. DR双能量减影技术在外伤性肋骨骨折中的诊断价值[J].吉林医学,2012,33(17):3681-3682.
- [9]赵闯绩. DR双能量减影在胸部外伤诊断中的应用[J].青海医药杂志,2012,42(05):60-62.
- [10]胥继承,张国平. DR两次曝光双能量减影技术在胸部外伤中的诊断价值[J].中国中医药现代远程教育,2012,10(02):99.