

# 我国药品微生物限度检查的发展历程

严佳<sup>1</sup>, 钟桂香<sup>1</sup>, 贺金山<sup>1</sup>, 余小妹<sup>2</sup> (1 南京军区福州总医院药学科, 福建 福州 350025; 2 福建医科大学药学院, 福建 福州 350004)

[摘要] 目的 介绍我国药品微生物限度检查的发展过程及趋势。方法 通过查阅文献, 比较不同时期对药品微生物限度检查的规定。结果 随着医药科技的发展, 药品微生物限度检查标准要求逐步提高, 更具实用性, 与国际标准接轨。结论 仍需要不断完善药品微生物限度标准, 为药品使用安全提供更有力的保障。

[关键词] 药品检验; 微生物限度; 历程

[中图分类号] R927.1 [文献标志码] A [文章编号] 1006-0111(2010)03-0211-03

## 1 概述

由于药品染菌引起使用者的感染以致造成严重后果的事例屡有报道。如应用被绿脓杆菌污染的眼科制剂时, 有可能使患者再感染, 产生溃疡, 甚至失明; 应用被肠道致病菌污染的药品, 将会导致肠道疾病; 应用被金黄色葡萄球菌污染的表面创伤的药品, 可使患者发生败血症; 吸入污染霉菌或细菌的气雾剂将会导致患者肺部感染; 应用被污染的破伤风梭菌的妇科用药会引发破伤风症。随着人们对药品认识的提高, 药品微生物限度检查越来越受到人们的普遍的关注, 如何能准确地反映药品受污染的程度, 保证人民群众用药安全, 也是摆在药学工作人员面前的一个重要课题。

意识到微生物污染的潜在危险, 国外药典早已将细菌总数、霉菌和酵母菌总数及控制菌列入检查范围之列, 如 USP19版(1975年)、BP1973版。国外药典的微生物限度标准各有特点, 也有许多共同点, 发展态势基本一致<sup>[1]</sup>。而《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)1995年版才开始收载了微生物限度检查法, 中国药典的微生物限度标准如何与国际标准接轨, 值得探讨。为此, 本文对我国各个不同时期药品微生物限度检查规定作如下简要介绍。

## 2 不同时期的微生物限度检查规定与比较

### 2.1 初期的微生物限度检查规定

与国外比较, 我国开展药品微生物污染检查工作始于1972年<sup>[1]</sup>, 1978年由卫生部、化工部、商业部联合颁布我国第一个“药品卫生标准”。该标准主要是中药、化学药, 按剂型丸、片、散、冲及糖浆、合剂、水剂等剂型规

定了微生物限度, 包括细菌总数、霉菌总数的不同规定; 在调查研究并积累大量的数据基础上1980年版《药品卫生检验方法》中增补了破伤风梭菌检查法并对深部组织、创伤、溃疡及阴道用药开始检查破伤风梭菌<sup>[2]</sup>。至此建立了我国药品微生物限度检查法及限度标准的基本框架。

1990年由卫生部颁布了药品卫生标准及检验方法, 收载了“致病菌”的检查项目。但其《药品卫生标准》仍沿用1986年的部颁标准及1989年的若干补充说明, 两者相隔10年之久。《中国药典》(1990年版第二增补本)开始收载了“微生物限度检查法”, 这标志着我国药品质量监督上了一个新的台阶并与国际标准接轨。而随着我国GMP的逐步实施, 生产工艺的不断改进, 各类药品的微生物染菌程度得到有力的控制<sup>[3]</sup>。《中国药典》1995年版正式收载了药品的“微生物限度检查法”, 但其具体标准尚未载入药典。

### 2.2 中国药典2000年版微生物限度检查规定

2000年版中国药典一部和二部中, 分别就中药和化学药有关微生物限度检查法的内容, 在1995年版的基础上做了较大的修订, 最重要的是首次分剂型载入的微生物限度标准, 该标准正确有效地规范了药品生产检验和监督的程序, 为国家药品监督部门的监督管理、药品检验工作提供了可靠的依据。

但由于新剂型不断出现, 按剂型制订微生物限度标准十分复杂且比较笼统, 甚至有些剂型未规定微生物限度或某些药物品种不包含在剂型中, 如滴鼻剂、滴耳剂, 造成无据可依的现象。因此, 《中国药典》2000年版重新对丸、片、散、胶囊剂、含发酵类药材为原料的制剂修订了微生物限度标准。

但是, 2000年版药典未规定对抑菌成分的药品进行处理, 细菌在低稀释级不生长或少生长而在高

[作者简介] 严佳(1983-), 女, 药师. Tel 13859083141, E-mail linhaiguanyu@163.com.

稀释级才生长的情况并不少见,尤其对于有抑菌作用的中成药,情况比较复杂,标准有待进一步的完善<sup>[4]</sup>。

**2.3** 中国药典 2005 年版微生物限度检查规定《中国药典》2005 年版在 2000 年版基础之上,首先增加了微生物限度方法学验证的内容。2005 年 10 月《国药典发[2005]98 号》文对各药品检验所进一步规定,药品在进行无菌检查及微生物限度检查时,应首先进行方法学验证,否则不能出具“符合 2005 年版中国药典的规定”的结论<sup>[5]</sup>。方法学验证是确认所采用的方法是否适合于该药品的微生物限度检查,以保证实验的可靠性、准确性及检验结果的完整性。药典规定要求对细菌、霉菌和酵母菌的计数方法的验证,应该采用 5 种试验菌,即大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌和黑曲霉<sup>[6]</sup>。对于抑菌作用的品种,由于试验条件下存在对待检菌的干扰使检查结果不能真实地反映药品中被污染微生物的量,必须采取一定的措施,如培养基稀释法、薄膜过滤法、离心沉淀法等对供试品进行处理,使药品的抑菌作用在检验条件下消除或可忽略不计,从而顺利检出该类药品所污染的各种微生物,提高微生物的检出率。

此外,2005 年版药典根据不同制剂的给药途径,要求对不同的控制菌进行检查,并在中国药典 2000 年版基础上,增加了大肠菌群检查法和梭菌检查法。大肠菌群检查作为药品卫生指示菌具有广泛的卫生学意义<sup>[7]</sup>。有实验证明其在原料及口服药品中的检出率均较大肠埃希菌高,所以大肠菌群作为口服药品控制菌更合理<sup>[8]</sup>。而用于手术、烧伤或严重创伤的局部给药制剂,由“应符合微生物限度要求”改为“应符合无菌要求”,对药品的质量、工艺都提出了更高的标准。同时,2005 年版药典广泛吸纳先进的检测技术,使其更具科学性、规范性、实用性。

**2.4** 中国药典 2010 年版微生物限度检查法增修订内容简介 即将出版的 2010 年版药典根据实际工作情况增修订了微生物限度检查法的内容。增加的内容包括:增加了贴剂的微生物限度检查;增加了培养基适用性检查;对菌液使用时间做了具体规定;主要针对妇女阴道用药,为保证其安全性增加了白色念珠菌控制菌的检查等。

修订的内容包括:控制菌培养温度;菌数报告规则;菌落培养和计数时间;离心沉淀集菌法对试验菌的损伤较大,删除了此法;删除了控制菌检查验证方法中阴性菌对照组试验;删除了疱肉培养基,增加梭菌增菌培养基等。

### 3 讨论

**3.1** 根据查阅文献,笔者将我国药品微生物限度检查的发展分为以上 3 个阶段。1995 年以前是开展微生物限度检查工作的初期,1995 年版药典开始收录了微生物限度检查方法,2000 年版药典对中药制剂、化学药大部分制剂收录了微生物限度标准,微生物限度检查工作步入了正轨,2005 年版根据用药途径进一步提高了微生物限度标准,增加方法学验证内容,使微生物检验工作更加科学化。2010 年版药典将更加严格规定微生物限度检查法的内容,细化其标准,使其更具实用性,与国际接轨。

**3.2** 随着标准的修订,对微生物限度检查的要求更严格,更规范,收录检查品种数更多。所有标准的改变更加符合微生物限度检查的发展趋势。科学技术的发展带动了医药行业的发展,也必将对药品微生物限度检查标准的制定、质量监督和检测任务提出更高的要求。同时,提高专业人员的素质,推进新的微生物限度检查技术的发展势在必行。

**3.3** 中国药典根据我国中药传统特色,按给药途径制定中药的微生物限度检查标准,但中药原料来自天然的植物、动物、矿物,其微生物污染普遍存在,同一剂型各品种的原药成分差异较大,单一标准不能真实反映微生物污染的复杂情况及多样性,建议以中药品种为单位制定标准较为合理<sup>[9]</sup>。

**3.4** 与临床微生物检验不同,药品微生物检验是一门新兴的学科,我国开展药品微生物检验 30 多年,微生物限度标准颁布实施 20 多年,取得较大的进步,与国外药典比较,对微生物限度检查的某些要求不如美、英、欧药典严格,检验品种不如发达国家广泛,如肠科杆菌科和肠道菌的检查法及限度标准未载入中国药典。微生物限度检查工作任重道远,还应投入大量的人力、物力,不断地研究改进制定微生物限度标准,探索适合我国国情的标准,促进药品微生物学专业技术的发展和学术水平的提高。

### 【参考文献】

- [1] 马绪荣,苏德模.药品微生物学检验手册[M].北京:科学出版社,2000,59.
- [2] 田颂九,丁丽霞,田洁.国内外药典中质量标准的发展趋势简述[J].中国药学杂志,1999,34(11):781.
- [3] 袁惠德,毛伟利,刘建国,等.对《中国药典》(1990年版第二增补本)“微生物限度检查法”的修订意见[J].中国药业,1999,23(7):21.
- [4] 单亚.对《中国药典》(2000年版)微生物限度标准及有关规则的讨论[J].安徽医药,2003,7(5):397.

别于 0、1、2、4、6、8 h测定其微粒数。结果显示 GNK 和配伍溶液中不溶性微粒数均符合药典规定。

表 1 GNK 与盐酸头孢吡肟配伍溶液在不同时间不溶性微粒数(个/ml)变化

粒径	0 h	1 h	2 h	4 h	6 h	8 h	结果
> 10 μm	5.2	3.9	4.9	3.2	3.0	3.8	符合药典规定
> 25 μm	0	0.2	0.8	0	0.1	0	符合药典规定

2.5 含量测定

2.5.1 色谱条件<sup>[3]</sup> 头孢吡肟: ZORBA × SB C<sub>18</sub>柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm, Agilent); 流动相: 0.005 mol/L 磷酸二氢铵-乙腈 (93: 7, v/v); 检测波长: 257 nm; 进样量: 10 μl; 流速为 1.0 ml/min; 室温。

2.5.2 供试品溶液制备 称取盐酸头孢吡肟样品约 10 mg 精密称定。用蒸馏水溶解并稀释至 10 ml 用 GNK 定量稀释制成 40 μg/ml 的盐酸头孢吡肟溶液。

2.5.3 对照品溶液制备 称取盐酸头孢吡肟对照品约 10 mg 精密称定。用蒸馏水溶解制成每毫升含 100 μg 的溶液, 作为储备液。分别精密吸取储备液 4 ml 用蒸馏水稀释至 10 ml 的量瓶中, 制成浓度为 40 μg/ml 的盐酸头孢吡肟对照品溶液。

2.5.4 专属性试验 在上述色谱条件下, 取盐酸头孢吡肟对照品溶液和 GNK 适量, 进样分析。盐酸头孢吡肟峰与其相邻物质峰间分离度均 > 1.5 保留时间分别为 5.30、5.55 min, 结果显示专属性均良好。

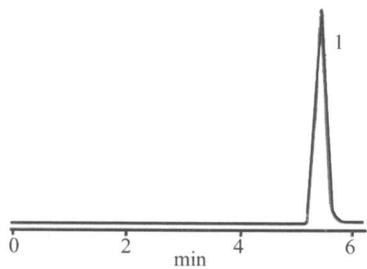


图 1 HPLC 色谱图  
1-盐酸头孢吡肟

2.5.5 线性关系考察 分别精密量取对照品储备液 1、2、4、6、8、10 ml 用蒸馏水定容至 10 ml 的量瓶中, 制成 10、20、40、60、80、100 μg/ml 的溶液, 按上述色谱条件下进样测定。以进样浓度 X 为横坐标, 以峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线, 头孢吡肟的回归方程为:  $Y = 1.62 \times 10^5 X - 1.34 \times 10^4$  ( $r = 0.9999$ )。线性范围均为 (24~64) μg/ml 盐酸头孢吡肟在此范围内线性关系良好。

2.5.6 精密度试验 在上述色谱条件下, 取盐酸头孢吡肟对照品溶液, 连续进样 5 次, 记录峰面积, 测得 RSD 为 0.11%。

2.5.7 重复性试验 依照“2.5.2”项下供试品溶液的制备方法, 平行制备 5 份相同浓度的供试品溶液, 按上述色谱条件进样测定, 盐酸头孢吡肟含量的 RSD 为 0.22%。

2.5.8 稳定性试验 在上述色谱条件下, 分别于配伍后 0、1、2、4、6、8 h 精密吸取盐酸头孢吡肟供试品溶液, 按上述色谱条件进样测定, 记录峰面积。以 0 h 药物的含量为 100% 计, 盐酸头孢吡肟的含量变化范围为 98.6% ~ 104.9%, 结果表明盐酸头孢吡肟配伍溶液在 8 h 内含量无明显变化。

3 讨论

通过对 GNK 与注射用盐酸头孢吡肟配伍后外观、pH 值、不溶性微粒和含量的考察, 证明配伍溶液 8 h 内的物理化学性质都没有明显变化, GNK 和注射用盐酸头孢吡肟配伍后 8 h 稳定, 可安全应用于临床。

【参考文献】

[1] 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学[M]. 第 15 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 65  
 [2] 中国药典 2005 年版[S]二部. 附录, 2005: 61  
 [3] 王杏林. HPLC 测定盐酸头孢吡肟的含量和有关物质[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(12): 938.

[收稿日期] 2009-08-24  
 [修回日期] 2009-11-03

(上接第 212 页)

[5] 耿敬军. 须抓好药品检验中的方法学验证工作[J]. 食品药监, 2007, 16(16): 8.  
 [6] 中国药典 2005 年版·二部[S]. 北京: 化学工业出版社, 附录 2005 94.  
 [7] 李捷, 李研, 等. 《中国药典》2000 年版与 2005 年版微生物限度标准进行比较[J]. 医药导报, 2007, 26(10):

1211.  
 [8] 张宇, 姜英, 方彬, 等. 药品微生物检查研究进展[J]. 淮海医药, 2005, 23(1): 61.  
 [9] 苏德模, 马绪荣. 药品微生物学检验技术[M]. 北京: 华龄出版社, 2007: 213.

[收稿日期] 2009-11-03  
 [修回日期] 2009-11-03