

# 乙酰胺法快速检定外用药品中绿脓杆菌

毛伟利 刘建国 (浙江省台州市药检所, 临海 317000)

绿脓杆菌为常见的致病菌之一, 卫生部药品卫生标准中规定外用药不得检出绿脓杆菌。部颁法对外用药品该菌的检验所需时间较长, 实际应用不便。为建立快速、简便、准确的绿脓杆菌检验法, 本文根据文献报导<sup>[1]</sup>对比考察了乙酰胺法和部颁法检验该菌的试验结果, 现报告如下:

## 1 材料:

1.1 供试品: 珍视明滴眼液(湖州制药厂, 批号950223), 白内停滴眼剂(武汉制药厂, 批号950636), 疥得治乳膏(珠海凤山制药厂, 批号940705), 皮炎平霜(珠海凤山制药厂, 批号940812), 妇炎灵(玉环制药厂, 批号950201-1), 阿托品滴眼液(椒江人民医院, 批号950205), 毛果芸香碱滴眼液(椒江人民医院, 批号950407)。

1.2 菌株: 绿脓杆菌(E 9052-1、E 9052-2、E 9052-3、E 9052-4、E 9052-5)由浙医二院和台州医院提供, 大肠杆菌[CMCC(B) 44102]及金黄色葡萄球菌[CMCC(B) 26003]由中国药品生物制品检定所提供。

1.3 培养基: 胆盐乳糖增菌液(B. L), 十六烷三甲基氯化铵琼脂(按部颁法配制), 乙酰胺培养基[《中国药典》1990年版附录(碱性碘化汞钾试液)配制]。

## 2 方法:

2.1 供试液制备: 取供试品按部颁法制备 1:10 供试液。

2.2 菌液制备: 取绿脓杆菌、大肠杆菌、金黄色

葡萄球菌菌苔少许, 接种肉汤培养基, 37°C 培养 24 小时, 用灭菌生理盐水 10 倍稀释至  $10^{-7}$ , 用平板计数法测得每 ml 含 100 个活菌。

2.3 乙酰胺法与部颁法比较试验, 各取 10 ml 1:10 供试液分别加入 100 ml B. L 增菌液中。A 瓶加入 1 ml  $10^{-7}$  绿脓杆菌菌液, B 瓶不加菌; 另取 2 瓶 B. L 增菌液加入大肠杆菌, 金黄色葡萄球菌各 1 ml 作对照, 均在 37°C 培养 24 h, 摇匀, 取 A 瓶培养物 5 ml 于灭菌离心管中, 以 500 转/min 离心 5 min, 取上层液于另一灭菌离心管中, 以 3500 转/min 离心 30 min, 弃上清液, 管底残液加 1 ml 乙酰胺培养基, 37°C 培养 2 h, 加 1~2 滴 Ness 试剂, 观察结果, 产生桔黄或黄色沉淀为绿脓杆菌阳性, 其它颜色为阴性。取 A、B 2 瓶划线接种十六烷三甲基氯化铵琼脂平板(分为两区, 作好标记), 在 37°C 培养 24 h, 观察菌落周围有无蓝绿色色素, 并挑取可疑绿脓杆菌菌落, 做氧化酶和 42°C 生长试验, 来判定是否为绿脓杆菌。每一样品均重复 3 次, 不同品种供试液加不同株的绿脓杆菌菌液。

3 结果与讨论: 结果见附表。实验结果提示:

3.1 乙酰胺法快速检定绿脓杆菌的原理是绿脓杆菌具有乙酰胺酶、丙酰胺酶<sup>[2]</sup>, 故能分解乙酰胺( $\text{CH}_3\text{CONH}_2$ )、丙酰胺( $\text{C}_2\text{H}_5\text{CONH}_2$ )产生氨( $\text{NH}_3$ ),  $\text{NH}_3$  与 Ness 试剂反应生成黄色或棕黄色的碘化氧二汞铵沉淀。

3.2 乙酰胺法与部颁法进行对比结果, 经检验 7 种样品, 6 种样品的对比结果完全符合。仅样品“妇

附表 乙酰胺法与部颁法检查绿脓杆菌结果比较

编 号	药品名称	乙 酰 胺 法		部 颁 法		
		加 菌	未 加 菌	十六烷三甲 基溴化铵	氧化酶	42℃
1	珍视明滴眼液	+	-	+(-)**	+	+
2	白内停滴眼剂	+	-	+(-)	+	+
3	疥得治乳膏	+	-	+(-)	+	+
4	皮炎平霜	+	-	+(-)	+	+
5	妇炎灵	+	+	+(-)	+	+
6	阿托品滴眼液	+	-	+(-)	+	+
7	毛果芸香碱滴眼液	+	-	+(-)	+	+
8	大肠菌液+乙酰胺*	-				+
9	金葡菌液+乙酰胺	-				

(注: \*乙酰胺培养基; \*\*括号内为未加菌的B.L增菌液分离培养的结果)

炎灵”阴性管乙酰胺法检定结果阳性,是否提示个别药物对此反应产生干扰,有待进一步研究。

3.3 乙酰胺培养基应临时配制,并且不宜在超过30℃的室温中放置,否则易产生假阳性。为防止NH<sub>3</sub>分解,培养基不能高压灭菌。

### 参 考 文 献

- 1 苏德模等.用乙酰胺快速检定药品中绿脓杆菌的方法研究.中国医院药学杂志,1989,9(2):67
- 2 中国科学院微生物研究所.《伯杰细菌检定手册》翻译组.伯杰细菌检定手册(第八版),上海:科学出版社,1984,279~290

收稿日期:1995-12-29