

# 微生物限度培养器在药品、水质微生物限度检查中的应用与研究

王知坚<sup>1</sup>, 周乔云<sup>2</sup> (1.浙江省药品检验所, 杭州 310004; 2.杭州泰林生物技术设备有限公司, 杭州 310052)

**摘要:** 目的 探讨 HTY-100 型微生物限度检验仪及其微生物限度培养器(耗材)用于药品、水质等样品的微生物限度检查的可行性。方法 采用微生物限度培养器对 5 种已知微生物进行回收率检验, 对药品样本和饮用水样本进行微生物限度检验。结果 经统计与传统方法比较检验结果差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 本法具有结果准确、操作简便的特点, 可广泛用于药品、水质的微生物限度检查。

**关键词:** 微生物限度培养器; 药品; 微生物限度

中图分类号: R927.33 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2010)06-0538-03

## Application and Study on Microbial Limit Test System in Drug and Water-quality Microbial Limit Test

WANG Zhijian<sup>1</sup>, ZHOU Qiaoyun<sup>2</sup> (1. Zhejiang Institute for Drug Control, Hangzhou 310004, China; 2. Hangzhou Good Medical Equipments Co. LTD & Hangzhou Tailin Bioengineering Equipments Co. LTD, Hangzhou 310052, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** HTY-100 microbial limit test system, including disposable unit, is tested and evaluated for its performance and feasibility in microbial limit test for drug and water samples. **METHODS** Five microorganism were tested for recovery rates by using HTY-100 microbial limit test system. Samples taken from drugs and drinking water separate batches are tested for microbial limits. **RESULTS** No statistically substantial difference in test result is found between using HTY-100 microbial limit test system and traditional method ( $P>0.05$ ). **CONCLUSION** Results prove that HTY-100 microbial limit test system is accurate and easy-to-use for drug and water-quality microbial limit test.

**KEY WORDS:** microbial limit test system; drug; microbial limit test

中国药典<sup>[1]</sup>规定纯化水、注射用水等药品生产工艺用水需采用薄膜过滤法进行微生物限度检查, 同时还规定对有抑菌作用的药品在进行微生物限度检查时可采用薄膜过滤法。根据以上规定, 传统的薄膜过滤法将滤膜黏贴在培养基表面进行实验, 操作较为繁琐。目前, 国产的微生物限度培养器已开发成功, 对其在药品和水质微生物限度检查中是否适用需进行实验研究。

### 1 实验材料

#### 1.1 设备

HTY-100 型微生物限度检验仪(杭州泰林生物技术设备有限公司); S60 微生物限度培养器(杭州泰林生物技术设备有限公司)。

#### 1.2 菌种

大肠埃希菌 CMCC(B)44102、金黄色葡萄球菌 CMCC(B)26003、枯草芽孢杆菌 CMCC(B)63501、白色念珠菌 CMCC(F)98001、黑曲霉 CMCC(F)98003 均由中国药品生物制品检定所提供; 黏质沙雷氏菌

作者简介: 王知坚, 男, 副主任药师 Tel: (0571)86459427

E-mail: wangzhijian822@163.com

1.1857 由中科院微生物研究所提供。

### 1.3 培养基

营养肉汤、营养琼脂、改良马丁、改良马丁琼脂、硫乙醇酸盐流体培养基均由北京三药科技有限公司生产。

### 1.4 供试品

板蓝根颗粒、复方丹参片、硼酸氯霉素溶液、呋喃妥因肠溶片、胆乐胶囊等均为浙江省药品检验所检毕样品。饮用水为自来水。

## 2 方法与结果

### 2.1 培养器性能确认实验

该培养器根据薄膜过滤法原理设计。将图1的培养器安装在微生物限度检测仪的滤座上，供试液倾入杯体，减压过滤后，取下培养器，翻转，将培养基浇注在滤膜集菌面的反面，凝固后，置规定条件培养即可。

**2.1.1 配合密闭性能** 杯体与滤膜支撑体等部位应连接到位，相互配合紧密、适中。加入液体后静置，杯体与滤膜支撑体连接处应不得有渗漏；培养器应方便地安装到滤座上，并能便捷地取下。检查 10 套培养器，结果均符合要求。

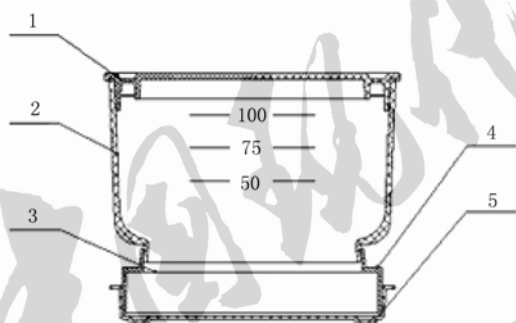


图 1 培养器结构图

1-杯盖；2-杯体；3-滤膜；4-滤膜支撑体；5-皿盖

Fig 1 Structure of apparatus for culture

1-funnel cover; 2-filter funnel; 3-filter membrane; 4-membrane supporter; 5-dish cover

**2.1.2 过滤性能** 微生物限度培养器安装到滤座上后，向下按压使培养器的滤膜紧贴于滤座的多孔板上。取下杯盖，向杯体内倒入待过滤液体，开启开关进行抽滤。过滤过程应顺畅不漏液，滤膜不破裂。检查 10 套培养器，结果均符合要求。

**2.1.3 无菌性能** 该培养器直接用于微生物限度检查，自身应符合无菌的要求。取培养器 10 套，分别过滤 100 mL 0.9%氯化钠注射液，收集滤液，合并，按中国药典 2005 年版二部附录 XI H 进行薄膜过滤法无菌检查，结果均符合要求。

**2.1.4 截留性能** 该培养器按薄膜过滤法原理设计，应能够达到有效截留微生物的要求。根据文献[2]报道，使用黏质沙雷氏菌作为挑战菌，将含有适宜浓度该菌的 100 mL 0.9%氯化钠注射液通过培养器过滤，收集滤液。取营养肉汤培养基，分装至适宜容器中，装量为 40 mL，取 2 份，分别接种上述滤液各 5 mL，置 35 °C 培养 48 h，应无菌生长。取培养器上的滤膜，接种至营养肉汤培养基中，同法培养，应有菌生长。检查 10 套培养器，结果均符合要求。

**2.1.5 微生物回收性能** 培养器用于微生物限度菌落计数，应能够准确反映样品中的实际菌数。以中国药典 2005 年版二部附录 XI J 收载的 5 种验证用菌种作为试验菌，培养器计数法为试验组，药典收载的贴膜计数法为对照组，以两组数据是否存在统计学差异来判断培养器的回收性能。

按药典规定，制备稀释菌液，并采用平皿法准确计数。将上述菌液分别通过培养器和传统的装配式过滤器过滤，分别置规定条件培养，点计菌落数。对两组数据进行 *t* 检验，结果表明，两种计数方法对 5 种菌的回收率无统计学差异，见表 1。

表 1 5 种微生物回收率实验结果(*n*=5)

Tab 1 Results of 5 microorganism recovery rates testing (*n*=5)

微生物名称	浇膜法	贴膜法	平皿计数	回收率/%	
				浇膜法	贴膜法
大肠埃希菌	101	106	111	91	95
金黄色葡萄球菌	36	38	38	95	100
枯草芽孢杆菌	50	48	52	96	92
白色念珠菌	89	88	97	92	91
黑曲霉	59	59	64	92	92

### 2.2 培养器适用性确认实验

选取板蓝根颗粒、复方丹参片、硼酸氯霉素溶液、呋喃妥因肠溶片、胆乐胶囊等 5 种不同的含抑菌作用的药品和饮用水样品作为供试品，参照中国药典 2005 年版附录中的薄膜过滤法进行菌落计数(细菌数)，以培养器计数法为试验组，传统贴膜计数法为对照组，以两组数据是否存在统计学差异来判断培养器的适用性。

按药典规定，取上述 5 种药品制备 1:10 供试液，各取 10 mL 分别通过培养器和传统的装配式过滤器过滤，用相同量的冲洗液分别冲洗滤膜；取饮用水样品同法操作，不冲洗，每种样品平行进行 5 次实验，分别置规定条件培养，点计菌落

数。对两组数据进行  $t$  检验, 结果表明, 两种计数方法对上述样品的细菌计数结果无统计学差异, 见表 2。

表 2 适用性确认实验结果( $n=5$ )

Tab 2 Results of applicable testing ( $n=5$ )

样品名称	浇膜法	贴膜法
板蓝根颗粒	2	2
复方丹参片	32	35
硼酸氯霉素溶液	2	1
呋喃妥因肠溶片	0	0
胆乐胶囊	22	19
饮用水	61	60

### 3 讨论

浇膜法与贴膜法对大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、黑曲霉的回收率均大于 75%; 5 种含抑菌作用药品及饮用水样品浇膜法与贴膜法测定的结果无统计学差异。实验结果证明, 微生物限度培养器的结构及运行性

能的原理与贴膜法基本一致, 可以用于药品、水质的微生物限度检查。

微生物回收性能实验发现, 浇膜法在菌落形成的速度上要快于传统的贴膜培养法。此外, 浇膜培养能使金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌呈现更为典型的菌落形态。

培养结束后, 在培养盒上盖的内表面有水汽凝结, 可能影响菌落点计, 计数前可将培养盒置电热板上略加干燥即可挥干水汽。

经培养后培养盒的培养基层可能会有个别菌落生长, 可不作为供试液的菌落计数。

### REFERENCES

- [1] Ch.P (2005) Vol II (中国药典 2005 年版. 二部) [S]. 2005: 303.
- [2] ZHENG J Y, WANG G B. Microbiology and Test Technique of Drug Control(药品微生物学及检验技术) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1989: 221.

收稿日期: 2009-11-18