

胸腺肽肠溶片微生物限度研究

Research on Microbial Limit of Thymosin Enteric Coated Tablets

王明翠¹ 徐成瑶¹ 张晓静^{2*}

Mingcui Wang¹ Chengyao Xu¹ Xiaojing Zhang^{2*}

1. 吉林省药品检验研究院 中国·吉林 长春 130033

2. 吉林大学中日联谊医院 中国·吉林 长春 130033

1. Jilin Institute for Drug Control, Changchun, Jilin, 130033, China

2. China-Japan Union Hospital of Jilin University, Changchun, Jilin, 130033, China

摘要: 论文根据《中国药典》2020年版四部通则1105、1106、1107中的微生物限度检查法,通过对本年度市面上在售胸腺肽肠溶片进行检查,分别检测了需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数;控制菌:大肠埃希菌、耐胆盐革兰阴性菌、沙门氏菌;掌握了该年度在售的胸腺肽肠溶片的微生物污染情况,对医生和患者提出建议。

Abstract: In this paper, the microbial limit test of thymosin enteric-coated tablets on the market in the current year was carried out by using the method of microbial limit test in the four general principles of *Chinese Pharmacopoeia* (2020 edition) 1105, 1106, 1107, the total number of aerobic bacteria, mold and yeast, escherichia coli, bile salt-resistant bacteria and salmonella were detected, and the microbial contamination of thymosin enteric-coated tablets of the drug was mastered, give advice to doctors and patients.

关键词: 需氧菌; 霉菌酵母菌; 大肠埃希菌; 耐胆盐革兰阴性菌; 沙门氏菌

Keywords: aerobic bacteria; mold yeast; escherichia coli; bile salt tolerant gram negative bacteria; salmonella

DOI: 10.12346/pmr.v5i1.8138

1 引言

近几年来,新型冠状病毒肆虐全球,严重影响了经济发展,夺去了很多生命,也让一些感染者治愈后留下了许多后遗症,体质严重下降,大大降低了生活质量。目前看,人类需要与新冠病毒做长期的斗争。人类靠躲避、封闭并非长久之计。只能靠提高自身免疫力,正面与病毒做抗争。强身健体,提高免疫力,成为每一个人,每一个家庭的当务之急。如此一来,各种提高免疫力的保健品、药物涌入市场。胸腺肽肠溶片一直作为肿瘤的辅助治疗,提高免疫力的药物,一时成为大众的宠儿。胸腺肽是由动物胸腺细胞分泌的多肽类激素,该多肽能够促进免疫细胞的成熟,从而激活细胞免疫。近年来,在临床防治试验中也取得了比较满意的效果,因此在临床上得到医生和患者的一致推崇。甚至许多老百姓为了提高免疫力,自行购买并长期口服胸腺肽肠溶片。那么该药的安全性如何呢?由于该药生产过程复杂,周期长,生产环

境如不严格控制,很容易造成微生物污染,引入新的病原菌,会影响药物疗效,甚至会加重病情,对消费者造成药源性伤害。本文将从可能污染菌群的角度,对多家生产的肠溶片进行微生物限度检查^[1],对药品的生产环境控制,用药安全等方面提出建设性意见。

2 实验材料

2.1 仪器

电子天平(JJ500A-WS145)、电动匀浆仪(ZW-800D)、生物安全柜(AC2-4S1-WS007)、霉菌培养箱(MJX-250B-Z-WS126)、生化培养箱(SPX-250B-Z-137)、可扩展试验箱(BXS-400S-WS021)。

2.2 培养基及试剂

胰酪大豆胨琼脂培养基(20230123)、胰酪大豆胨液体培养基(TSB)(20230123)、沙氏葡萄糖琼脂培养基

【作者简介】王明翠(1982-),女,中国江苏徐州人,硕士,主管药师(中级),从事生物制品(包括血液制品、疫苗)的质量控制研究。
【通讯作者】张晓静(1975-),女,中国黑龙江甘南人,硕士,检验医师,从事医学检验研究。

(230124)、肠道菌增菌液体培养基(20230122)、紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基(20230126)、麦康凯液体培养基(20230124)、麦康凯琼脂培养基(20230124)、RV沙门增菌液体培养基(20230122)、木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂(XLD)(20230126)、0.9%氯化钠溶液(20230126)。

以上试剂来源:北京奥博星生物技术有限公司。

2.3 供试品

胸腺肽肠溶片 178 批,笔者所在单位抽样科从生产厂家、药店、医院药剂科抽取。

2.4 试验用阳性对照菌种

金黄色葡萄球菌 [CMCC(B)26003]、枯草芽孢杆菌 [CMCC(B)63501]、铜绿假单胞菌 [CMCC(B)10104]、白色念珠菌 [CMCC(F)98001]、黑曲霉菌 [CMCC(F)98003],来源:中国食品药品检定研究院。

3 方法

3.1 操作方法及判定依据

《中国药典》2020 年版四部通则 1105、1106、1107。

操作方法见下文,判定标准如下:

需氧菌不得超过 10^3 cfu/g,霉菌和酵母菌不得超过 10^2 cfu/g,耐胆盐不得超过 10^2 cfu/g,大肠埃希菌不得检出,沙门氏菌不得检出^[2]。

3.2 样品制备

取供试品 10g,置无菌瓶中,加 pH7.0 无菌-氯化钠-蛋白胨缓冲液至 100mL,转移至匀浆杯中,开机搅拌,溶解,混合使均匀,即为 1:10 供试液;取 1:10 供试液 10mL,加含 20%吐温 80 的 pH7.0 无菌-氯化钠-蛋白胨缓冲液至 100mL,混合使均匀,即为 1:100 供试液。

3.3 需氧菌、霉菌及酵母菌

需氧菌:取 1:100 供试液,每皿 1mL,2 皿/批,倾注胰酪大豆胨琼脂培养基;置 33℃培养 5 天^[3];同时做阴性对照。

霉菌、酵母菌:取 1:10 供试液,每皿 1mL,2 皿/批,倾注沙氏葡萄糖琼脂培养基,置 23℃培养 7 天;同时做阴性对照(图 1)。

检测结果如表 1 所示。



霉菌:沙氏琼脂培养基平板上,菌落为乳白色,表面光滑有浓醇

图 1 霉菌

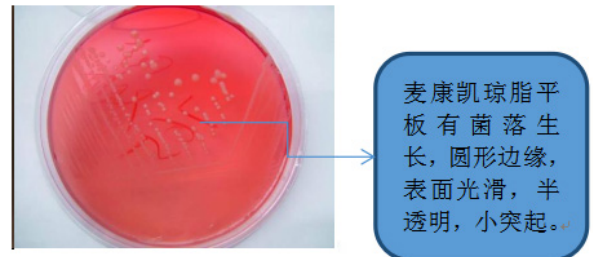
3.4 大肠埃希菌

供试品:取 1:10 供试液 10mL,接种至 100mL 的胰酪大豆胨液体培养基中,混匀,33℃培养 24h。取培养物 1mL 置麦康凯液体培养基中,43℃培养 48h,取培养物划线接种于麦康凯固体培养基上。33℃培养 72h(图 2)^[4]。

阳性对照:取 1:10 供试液 10mL,接种至 100mL 的胰酪大豆胨液体培养基中,混匀,加入不大于 100cfu 大肠埃希菌,同上操作。

阴性对照:取 pH7.0 无菌-氯化钠-蛋白胨缓冲液 10mL,接种至 100mL 的胰酪大豆胨液体培养基中,同上操作。

大肠埃希菌检测结果见表 2。



麦康凯琼脂平板有菌落生长,圆形边缘,表面光滑,半透明,小突起。

图 2 大肠埃希菌

3.5 耐胆盐革兰阴性菌

取本品 10g 置匀浆杯中,加入胰酪大豆胨液体培养基 100mL,以 4000r/min,开机 1~3min,使其在介质中分散均匀,制成 1:10 供试液,混匀,在 20℃~25℃培养约 2h。取 1:10 供试液 1mL 置 10mL 肠道菌增菌液体培养基中^[5],33℃培养 24h。划线接种于紫红胆盐葡萄糖琼脂平板,33℃

表 1 需氧菌、霉菌及酵母菌检测结果

检出项	> 1000cfu/g	500~1000cfu/g	200~500cfu/g	100~200cfu/g	50~100cfu/g	1~10cfu/g	< 1cfu/g
需氧菌	0	0	0	5	16	31	126
霉菌、酵母菌	0	0	0	0	2	13	163

表 2 大肠埃希菌检测结果

培养基	(TSB) 浑	麦液浑、变为黄色	麦固有典型菌落生长	判定结果阳性
检出阳性批数	56	12	0	0
阳性对照	+	+	+	+

培养 24h (图 3)。耐胆盐革兰阴性菌检测结果见表 3。

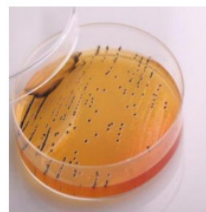
3.6 沙门

取本品 10g 置匀浆杯中, 加入胰酪大豆胨液体培养基 100mL, 以 4000r/min, 开机 2min, 使其在介质中分散均匀, 混匀, 在 33℃ 培养 18h。取上述培养物 0.1mL 接种至 10mL RV 沙门增菌液体培养基中^[6], 33℃ 培养 18h, 取 RV 沙门增菌液体培养物划线接种于木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂培养基平板上, 33℃ 培养 18h (图 4)。沙门氏菌检测结果见表 4。



图 3 耐胆盐革兰阴性菌

紫红胆盐葡萄糖琼脂培养基平板上, 有菌落生长。



XLD 平板, 培养基由紫红色变为黄色, 菌落生

图 4 沙门氏菌

4 结果

胸腺肽肠溶片有 8 家生产企业, 13 个批准文号; 本年度共抽样 178 批次, 涉及 5 家生产企业 (占比 62.5%), 9 个批准文号 (占比 69.2%); 全国 31 省 (市、区) 除北京、西藏之外均抽到样品, 地区抽样覆盖率为 93.5%; 样品来自生产企业、经营企业及医疗机构, 但是以经营企业为主, 占有样品的 70.2%。本次共检验 178 批样品, 按照《中国药典》2020 年版四部通则 1107 判定, 全部合格。控制菌均未检出。有部分厂家检出需氧菌、霉菌和酵母菌。

表 3 耐胆盐革兰阴性菌检测结果

培养基	肠道菌增菌液体培养基浑、产气	紫红胆盐葡萄糖琼脂	结果
检出阳性批数	13	0	0
阳性对照	+	+	+

表 4 沙门氏菌检测结果

培养基	(TSB) 浑	RV 浑、变为黄色	XLD 有典型菌落生长	判定结果阳性
检出阳性批数	18	2	0	0
阳性对照	+	+	+	+

5 讨论

该检验结果表明, 该产品在制备、工艺、生产及流通的各个环节质量相对稳定^[7]。不过, 该产品有潜在微生物污染风险, 销售方应注意温度、湿度及通风处理, 使用者注意有效期, 开封后注意在短期内服用完毕。

参考文献

[1] 闵红, 闫晋晋, 安凤秋, 等. 三种中药成方制剂微生物限度方法验证[J]. 安徽医药, 2012, 16(12): 3.
[2] 耿敬军, 张俊. 药品微生物检查验证试验现状调查与建议[J]. 中国药房, 2006, 17(21): 2.

[3] 张雪原, 林晓辉, 余洁真. 3种医院制剂微生物限度检查法的建立[J]. 中国药师, 2008(8): 1004-1006.
[4] 吴娟. 含抑菌成分中成药微生物限度检查方法研究[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(14): 2.
[5] 杨海燕, 刘海静, 乔蓉霞. 乙肝清热解毒片质量标准的改进[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(10): 3.
[6] 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.
[7] 陈新谦, 金有豫, 汤光, 等. 新编药理学[J]. 北京: 人民卫生出版社, 2007.