

# 红霉素软膏微生物限度方法学的验证

金健, 陈昱, 崔永学, 金桂花\*

(吉林省延边朝鲜族自治州食品药品检验所, 延吉 133000)

**摘要: 目的** 验证红霉素软膏微生物限度实验方法。**方法** 选取三个批号的红霉素软膏(S1~S3), 分别采用三种冲洗方式分为试验组和阳性、阴性对照组(供试品对照组和菌液对照组), 通过试验分析红霉素软膏的微生物限度检测方法。**结果** 试验的不同批次红霉素软膏所需的氧菌、酵母菌、霉菌以及加菌回收比值在0.5~2区间内, 红霉素软膏试验微生物菌株的抑制可以采取薄膜过滤法。因此, 所有方法均能有效消除红霉素软膏的抑菌成分, 实验结果能真实反映出红霉素软膏的微生物污染情况。**结论** 离心集菌薄膜过滤法在红霉素软膏抑菌清除中的应用具有较高价值存在, 且该方式不会对红霉素软膏的微生物限度试验造成影响。

**关键词:** 红霉素软膏; 微生物限度; 抑菌作用; 回收率

## Validation of the microbial limit methodology of erythromycin ointment

JIN Jian, CHEN Yu, CUI Yong-Xue, JIN Gui-Hua\*

(Food and Drug Control Institute, Yanbian Korean Autonomous Prefecture, Yanji 133000, China)

**ABSTRACT: Objective** To verify the experimental method of erythromycin ointment. **Methods** Three batch numbers of erythromycin ointment (S1~S3) were selected and divided into three washing methods: test group and positive and negative control group (test article control group and bacterial solution control group). The microbial limit detection method of erythromycin ointment was analyzed by test. **Results** The recovery ratio of oxygen bacteria, yeast, mold and added bacteria required for different batches of erythromycin ointment in the test is between 0.5 and 2, and the inhibition of microbial strains of erythromycin ointment test can be adopted by membrane filtration method. Therefore, all the methods can effectively eliminate the antibacterial components of erythromycin ointment, and the experimental results can truly reflect the microbial contamination of erythromycin dye ointment. **Conclusion** The application of centrifugal method in antibacterial removal will not affect the microbial limit test of erythromycin ointment.

**KEY WORDS:** erythromycin ointment; microbial limits; bacteriostatic activity; recovery rate

## 0 引言

受当前医药工业的发展, 药品制作的标准在不断提升, 而卫生无限度试验作为可以检测药品质量的重要手段, 在保证

制剂微生物质量方面具有至关重要的作用。红霉素软膏作为一种常用的抗生素制剂, 具有抑菌作用, 能够抑制微生物的生长, 在微生物质量控制中应用较为广泛<sup>[1-2]</sup>。然而, 当前广泛使用的红霉素软膏微生物限度试验方法是否能够准确、可靠地评估产

\* 通信作者: 金桂花, 副主任药师, 主任, 研究方向为药物分析。E-mail: 1981570594@qq.com

\*Corresponding author: JIN Gui-Hua, Deputy Chief Pharmacist, Director, Food and Drug Control Institute, Yanbian Korean Autonomous Prefecture, Yanji 133000, China. E-mail: 1981570594@qq.com

品的微生物质量, 仍然需要进一步的验证。传统的微生物限度试验方法在应对一些特定的微生物污染问题上可能存在一定的局限性, 例如对某些微生物的检测灵敏度、试验方法的可重复性以及与实际生产条件的适应性等方面的挑战<sup>[3-4]</sup>。为了弥补这些潜在不足, 对红霉素软膏微生物限度试验方法进行系统的验证显得尤为紧迫。本研究的目的是通过验证现有的红霉素软膏微生物限度试验方法, 全面评估其在实际应用中的准确性和可靠性。通过明确现行方法的适用性和局限性, 我们致力于提出可能的改进措施, 以确保微生物限度试验方法在红霉素软膏生

产过程中的稳健性和有效性。本研究特选取三个批号的红霉素软膏展开试验, 通过红霉素软膏抑菌作用的清除展开微生物限度实验方法的验证, 具体分析如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

选取三个批号的红霉素软膏 (S1-S3), 批号分别为 170301、160412、161102, 均产于新乡华青药业。具体培养基、稀释液及菌种的类型和提供单位见下表 1。

表 1 培养基、稀释液、菌种的类型与提供单位

Table 1 Media, dilution, strain type and supply unit

	类型	提供单位
培养基	PH 7.0 无菌氯化钠 - 蛋白胨缓冲液、TSB、SDB、SDA、TSA、甘露醇氯化钠琼脂培养基、溴化十六烷基三甲胺琼脂培养基	北京陆桥技术股份有限公司
稀释液	0.9% 无菌氯化钠溶液 (NS)	信合援生制药股份有限公司
菌种	金黄色葡萄糖球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、白色假丝酵母菌、黑曲菌	中国食品药品检定研究院

### 1.2 方法及观察指标

仪器设备: ① BHC-1300 II A2 型生物安全柜 (苏净集团苏州安泰空气技术有限公司); ② SPX-150B-Z 型生化培养箱 (上海博讯医疗生物仪器股份有限公司)、SPL-450 型生化培养箱 (天津市波特瑞仪器设备有限公司)、SPX-150BSH- II 型生化培养箱 (上海新苗医疗器械制造有限公司); ③ Htysteritest 601 型集菌仪 (杭州泰林生物技术设备有限公司); ④ FY220 滤膜孔径 0.45  $\mu\text{m}$  的一次性集菌过滤器培养器 (温州维科生物实验设备有限公司)。

供试液: 在每个批号的红霉素软膏中分别取出 10g 药膏放置在有无菌玻璃珠输液瓶中, 添加无菌十四烷酸异丙酯振荡溶解后添加 45°C PH7.0 无菌氯化钠 - 蛋白胨缓冲液 100 mL, 振荡 10 min, 静置后下面的水层是 1:10 的供试液。

试验组回收率: 供试液和试验菌分别取 1mL 注入到平皿中, 倾注相应的培养基, 平行制备 2 皿后测定均落数, 用离心集菌薄膜过滤法将 1 mL 供试液添加 200 mL 稀释液中混合均匀, 薄膜过滤分别用 200 mL、400 mL、600 mL 冲洗液进行冲洗, 冲洗后依次添加 1mL 金黄色葡萄糖球菌、铜绿假单胞菌和枯草芽孢杆菌菌悬液, 滤干后将薄膜取出贴附在琼脂培养基平板上。随后用培养基稀释法在 5 个平皿中分别注入 0.2 mL 供试液, 再选取 2 个平皿中注入 0.5 mL 供试液, 添加试验菌。加菌回收比值菌液对照组回收率: 阳性用稀释液代替供应液, 与试验组

相同添加试验菌液, 在平板上呈现控制菌典型菌落生长的状态。阴性用稀释液代替菌液和供试液, 其他试验的操作与试验组相同。

供试品对照组回收率: 用试验组制备良好的供应液, 稀释液代替菌液, 具体试验的操作与试验组相同。

霉菌、酵母菌总数计数与养菌总数计数法验证方式相同, 将冲洗量控制在 500 mL/膜, 在 25°C 环境下培养 5~7 d, 观察并记录每天培养结果。

### 1.3 统计学分析

用 Excel 表格将需氧菌总数计数法的验证结果进行记录并统计分析。

## 2 结果

### 2.1 需氧菌、酵母菌和霉菌总数计数法的验证

S1-S3 生红霉素软膏需氧菌、酵母菌和霉菌的加菌回收率均在 0.5~2 之间, 可见薄膜过滤法的应用可以有效消除红霉素软膏对实验微生物菌株的抑制作用, 见表 2 和表 3。

### 2.2 控制菌检查方法的适用性证实

根据验证方案做进一步的试验, 试验组和菌液对照组都可以对金黄色葡萄糖球菌和铜绿假单胞菌典型炎性菌落进行检测, 阴性对照组无菌生长, 所以控制菌检查方法适用金黄色葡萄糖球菌和铜绿假单胞菌的检查, 红霉素软膏的微生物限度试验可以按照该方法进行验证, 见表 4。

表2 需氧菌总数计数法的验证  
Table 2 Validation of the total count method of aerobic bacteria

菌种	红霉素软膏	试验组	供试品对照组	菌液对照组	回收比值
金黄色葡萄球菌	S1	85	0	97	0.876
	S2	83	0	98	0.847
	S3	84	0	95	0.884
铜绿假单胞菌	S1	86	0	94	0.915
	S2	81	0	96	0.844
	S3	80	0	93	0.860
枯草芽孢杆菌	S1	83	0	93	0.892
	S2	85	0	95	0.895
	S3	82	0	94	0.872
白色假丝酵母菌	S1	73	0	85	0.859
	S2	75	0	89	0.843
	S3	71	0	85	0.835
黑曲霉	S1	35	0	49	0.714
	S2	32	0	41	0.780
	S3	29	0	43	0.674

表3 需酵母菌和霉菌总数计数法的验证  
Table 3 Validation of the yeast and mold total counts method is required

菌种	红霉素软膏	试验组	供试品对照组	菌液对照组	回收比值
白色假丝酵母菌	S1	76	0	90	0.844
	S2	72	0	88	0.818
	S3	70	0	86	0.814
黑曲霉	S1	33	0	50	0.660
	S2	35	0	45	0.778
	S3	28	0	46	0.609

表4 控制菌检查方法的适用性试验  
Table 4 Suitability test of the control bacteria test method

组别	金黄色葡萄球菌		铜绿假单胞菌	
	胰酪大豆胨液体培养基	甘露醇氯化钠琼脂平板	胰酪大豆胨液体培养基	甘露醇氯化钠琼脂平板
试验组	浑浊	典型阳性菌落	浑浊	典型阳性菌落
供试品对照组	澄清	无菌生长	澄清	无菌生长
阴性对照组	澄清	无菌生长	澄清	无菌生长
阳性对照组	浑浊	典型阳性菌落	浑浊	典型阳性菌落

### 3 讨论

红霉素软膏是一种含有红霉素的外用药膏,该药物是一种广谱抗生素,对许多细菌具有抑制和杀灭作用。红霉素软膏通

常用于治疗一些皮肤感染,例如轻度烧伤、划伤、溃疡、湿疹等,通过药物的涂抹能帮助患者缓解炎症和症状,可取得显著的治疗效果。但由于该药物是一种抗生素类药物,长期或过度的使用均会导致细菌耐药性等问题,且部分患者在使用该药物

期间会出现过敏反应,因此需要结合自身病情和实际状况决定用药<sup>[5-6]</sup>。红霉素软膏微生物限度试验是确保药品质量和安全性的重要步骤之一,微生物限度试验旨在检测药品中可能存在的微生物污染,以确保其符合法规和标准的要求<sup>[7-8]</sup>。红霉素软膏微生物限度试验的主要目的是评估产品中的微生物负载,以确保其在使用期间不会对患者造成危害,这一试验是对生产过程的监控,以及对药品质量的保证的重要组成部分<sup>[9]</sup>。在本研究实施验证过程中,不仅要保证微生物限度试验符合相关的法规和药典标准,例如药典中的规范和相关的药品监管机构发布的指南,验证的方法也应当能够有效地检测可能存在的各类微生物,包括细菌、霉菌和酵母等<sup>[10-11]</sup>。通过红霉素软膏微生物限度实验方法,可以选择并评估相关参数,结合产品的特性、生产的构成以及药物在实际临床中使用等情况进行评估<sup>[12]</sup>。微生物限度试验方法的验证不是一次性的工作,需要定期进行再验证,以确保方法的可靠性和适用性在生产过程中的持续性<sup>[13]</sup>。在进行红霉素软膏微生物限度试验方法验证时,企业应严格遵循质量管理体系和相关法规的要求,以保障患者的用药安全和产品的质量。验证结果的透明记录有助于确保药品在市场上的合规性和可靠性。

本研究结果中指出,红霉素软膏的抑菌作用较高,运用十四烷酸异丙酯能将红霉素软膏充分溶解,消除软膏的抑菌作用,并通过多次的萃取、冲洗消除其抑菌作用,同时不破坏红霉素软膏的微生物污染检测。根据样品微生物限度的标准、供试液稀释倍数及冲洗量选取供试液的倍数,较大的供试液倍数能降低误差发生率。在供试液制备时,将20 mL 无菌十四烷酸异丙酯添加至红霉素软膏样品中并充分的摇晃溶解,添加45℃ 100 mL 的PH 7.0 无菌氯化钠-蛋白胨缓冲液,则需要注意在转换的过程中控制幅度,避免乳化难分层。整体工作量相对较大,为了能在最短时间内掌握红霉素软膏微生物验证的方法,以少数敏感菌做预实验,不仅能找准检测的方法,还能有效缩短时间<sup>[14]</sup>。红霉素软膏与水不易相容,所以无菌十四烷酸异丙酯的添加能够有效溶解软膏,确保水层分离后有效提取供试液<sup>[15]</sup>。经最终的结果分析,可见离心集菌薄膜过滤法在试验中的应用可以有效的将从霉素软膏的抑菌作用清除、抑制,这一方式对于红霉素软膏微生物限度检查具有积极意义。

## 4 结论

综上所述,离心集菌薄膜过滤法在试验中的应用能有效抑制红霉素软膏的抑菌作用,具有较为显著的抑制效果,该方法在红霉素软膏微生物限度检查中应用具有较高价值存在。

## 参考文献

[1] 牛萌萌,姬俊,王立云,等.感冒清热颗粒微生物限度检查及

质量分析[J].中国药品标准,2023,24(05):525-528.

- [2] 常宁宁,黄春娥.他米巴罗汀片微生物限度检查方法适用性研究[J].海峡药学,2023,35(10):34-36.
- [3] 刘荔,薛勇,高瞻,等.化学原料药奥替拉西钾微生物限度检查方法的研究[J].中国医药导刊,2023,25(05):501-505.
- [4] 刘康连,庞云娟,龙文洲,等.两种瑶药酊剂微生物限度检查方法适用性试验及结果分析[J].中国民族民间医药,2022,31(14):26-30.
- [5] 任仲丽,曹鲁娜,刘博,等.不同剂型通宣理肺制剂微生物限度检查方法适用性试验研究[J].中国药品标准,2021,22(05):471-477.
- [6] 黄燕,戴余雯,周素琴,等.赤芍桃仁颗粒微生物限度检查方法适用性试验研究[J].甘肃医药,2021,40(07):635-638.
- [7] 刘玲,薛建国.红霉素软膏微生物限度试验方法的验证[J].上海医药,2021,42(07):78-80.
- [8] 张萍.基于2019年基本药物省抽专项红霉素制剂的质量分析及研究[J].海峡药学,2021,33(03):84-86.
- [9] 苏娟娟,邱恒宜,尤文质,等.盆腔炎灌肠液微生物限度检查方法适用性试验[J].中国中医药现代远程教育,2020,18(16):114-116.
- [10] 刘婷婷,牛萌萌,张捷.定量标准菌株在药品微生物限度检查方法适用性试验中的应用[J].中国药师,2020,23(05):965-967.
- [11] 李趣嫦,李文靖,张帆.11种药用淀粉及衍生物的微生物限度检查法适用性试验[J].中国药品标准,2020,21(01):56-61.
- [12] 卫延明,陈子龙,闵朕,等.三种西药制剂微生物限度检查方法适用性试验的研究[J].海峡药学,2020,32(01):59-62.
- [13] 尚鲁强,潘茹会.检验科微生物检验质量影响因素与病原菌耐药性分析[J].中国实用医药,2022,17(07):117-119.
- [14] 沈锐,周剑,严海元,等.罗红霉素片的微生物限度研究[J].海峡药学,2022,34(01):81-84.
- [15] 代良纯.微生物检验质量因素与病原菌耐药性研究[J].中国现代药物应用,2021,15(11):250-252.

## 作者简介



金健,硕士,主管药师,科员,研究方向为微生物检验。

金桂花,副主任药师,主任,研究方向为药物分析。