肉豆蔻酸异丙酯在药品微生物检验样品前处理中的应用研究

佘　凡[1]，闵　红[2]，伏　超[1]，薛建国[1]

（1. 杨凌示范区药品检验监测评价中心，陕西杨凌 712100；2. 陕西省食品药品监督检验研究院，陕西西安 710065）

摘要：该研究考察了肉豆蔻酸异丙酯（IPM）在非水溶性制剂的微生物限度检查样品前处理中的应用情况。首先，采用加菌回收法测定 IPM 在经前处理的供试品样品中对微生物生长、检出的影响，结果显示其对微生物的毒性可忽略不计，不影响污染微生物的检出。随后，采用 IPM 对 5 种非水溶性制剂进行样品前处理，并进行微生物限度方法适用性试验研究。结果显示，IPM 对非水溶性制剂有良好的溶解性。经 IPM 处理的非水溶性供试品通过溶解 - 萃取转化为水溶性供试品，可采用薄膜过滤法消除药品抑菌性，建立相应品种的简便微生物限度检验方法。该研究显示了 IPM 在非水溶性制剂供试液制备中良好的应用前景，以及其用于特殊基质样品前处理的潜力。

关键词：肉豆蔻酸异丙酯；样品前处理；非水溶性制剂；微生物限度检查；方法适用性

中图分类号：R917　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2023)02-0254-05

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.02.014

Study on the Application of Isopropyl Myristate in the Pretreatment of Pharmaceutical Microbiology Testing Samples

SHE Fan[1], MIN Hong[2], FU Chao[1], XUE Jianguo[1]

(*1. Yangling Demonstration Center for Drug Testing and Monitoring Evaluation Center, Yangling 712100; 2. Shaanxi Institute for Food and Drug Supervision and Inspection, Xi'an 710065*)

ABSTRACT: This study investigated the application of isopropyl myristate (IPM) in sample pretreatment for the microbial limit test of water-insoluble preparations. First, the effect of IPM on the growth and detection of microorganisms in the pretreated test sample was determined by the bacteria-adding recovery method. The results showed that its toxicity to microorganisms could be ignored and IPM did not affect the detection of contaminated microorganisms. Subsequently, IPM was used for sample pretreatment of five water-insoluble preparations, and the applicability of the microbial limit method was tested. The results showed that the insoluble preparations could be well dissolved in IPM. The water-insoluble test samples treated with IPM were converted into water-soluble test samples through dissolution-extraction process. The membrane filtration method can be used to eliminate the bacteriostasis of drugs and establish a simple microbial limit test method for corresponding varieties. This study shows that IPM has a good application prospect in the preparation of test solutions of water-insoluble preparations and its potential for the pretreatment of special matrix samples.

Key Words: isopropyl myristate; sample pretreatment; water-insoluble preparation; microbial limit test; method applicability

药品微生物限度检查时，应根据制剂的理化特性和生物学特性，采取适宜的方法制备供试液[1]。非水溶性制剂因在水溶液中溶解度低，难以制备成均匀分散的供试液，因此应选用合适的溶剂来溶解、分散非水溶性制剂，这是供试品前处理中的难点和重点[2—3]。采用 Span-80、单硬脂酸甘油酯、Tween-80 的混合物可对非水溶性制剂进行前处理，但操作方法烦琐、污染几率大；而采用表面活性剂或乳化剂进行前处理时，制得的乳浊液均一性和稳定性较差，且进行薄膜过滤时流速慢，造成药物抑

收稿日期：2022-07-12

作者简介：佘　凡(1972—)，女，副主任药师，从事药品微生物检验及质量控制研究。

E-mail：1844799541@qq.com

菌性难于去除，影响试验结果。

肉豆蔻酸异丙酯（isopropyl myristate，**1**），又名十四烷酸异丙酯，为无色油状液体，能与有机溶剂混溶，不溶于水，常用作化妆品的乳化剂和润滑剂，也可用作局部给药制剂中的溶剂。非水溶性制剂采用 **1** 溶解后可直接进行薄膜过滤，但滤过效率低，易堵塞滤膜。然而，溶解后再采用水相萃取，取下层水溶液作为供试液则不会产生上述现象，且制备的供试液均一、稳定。此种简便、有效的非水溶性供试品前处理方法优于使用表面活性剂或乳化剂的方法[4]。本研究选取 5 种非水溶性制剂，经 **1** 前处理后进行检测，并开展方法适用性试验研究，考察了 **1** 在药品微生物限度检查样品前处理中的应用情况。

1 仪器与试药

HTY-601 型集菌仪、FC752 型薄膜过滤器（浙江泰林生物技术股份有限公司）；LMQ.C 型立式灭菌器（山东新华医疗器械股份有限公司）；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）；MJ-250- Ⅲ型霉菌培养箱（上海跃进医疗器械有限公司）；SPX-150 型生化培养箱（扬州慧科电子有限公司）。

莫匹罗星软膏（A 样，中美天津史克制药有限公司，批号 20210027）；克霉唑乳膏（B 样，杨凌生物医药科技股份有限公司，批号 20210503）；复方小儿退热栓（C 样，黑龙江天龙药业有限公司，批号 210604）；正红花油（D 样，成都东洋百信制药有限公司，批号 20211002）；小儿止泻贴（E 样，陕西东科制药有限责任公司，批号 20210902）；**1**（北京牛牛基因技术有限公司）。

胰酪大豆胨琼脂培养基（TSA）、沙氏葡萄糖琼脂培养基（SDA）、胰酪大豆胨液体培养基（TSB）、沙氏葡萄糖液体培养基（SDB）、甘露醇氯化钠琼脂培养基、溴化十六烷基三甲铵琼脂培养基、氯化钠 - 蛋白胨缓冲液（用作稀释液、冲洗液，pH 7.0）均购自北京三药科技有限公司。上述培养基的适用性检查符合《中华人民共和国药典》2020 年版（ChP 2020）非无菌产品微生物限度检查的要求。

金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌、沙门菌、白念珠菌、黑曲霉均来自中国医学细菌菌种保藏管理中心。

2 方法与结果

2.1 菌液制备

取“**1**”项下各菌株，照 ChP 2020 四部规定制成适宜浓度的菌悬液，备用。

2.2 **1** 对微生物的毒性

微生物限度法适用性试验所用溶剂应对微生物无毒，或毒性可忽略不计[5]。为验证 **1** 对微生物的毒性，采用了加菌回收法，测定其对微生物的影响。

稀释剂回收组：取无菌 **1** 100 mL，置于无菌锥形瓶中，加入≤ 100 cfu 金黄色葡萄球菌菌液，40 ℃水浴条件下振摇 10 min，然后加入稀释液 100 mL，水浴振摇 10 min，萃取，静置使油水明显分层，取全部下层水溶液，经薄膜过滤，滤后用冲洗液冲洗 9 次，每次 100 mL，滤完后取出滤膜贴于 TSA 平板上，33 ℃培养 3 d，计数。同法操作，制备分别加入铜绿假单胞菌、枯草芽孢杆菌、大肠埃希菌、沙门菌、白念珠菌和黑曲霉的样品（白念珠菌、黑曲霉试验组同时各制备滤膜贴于 SDA 平板上的样品，23 ℃培养 5 d，计数）。

菌液组：不加无菌 **1**，其余同“稀释剂回收组”制作步骤操作。

阴性对照组：不加试验菌，其余同“稀释剂回收组”制作步骤操作，应无菌生长。

计算各稀释剂回收组菌落数和菌液组菌落数的比值，试验结果如表 1 所示。稀释剂回收组中各试验菌回收比值在 0.5 ～ 2.0 范围内，符合 ChP 2020

表 1 样品前处理过程中的 1 毒性测试结果（*n*=3）

Tab.1 Toxicity Results of **1** in Sample Pretreatment Process（*n*=3）

项目	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	枯草芽孢杆菌	大肠埃希菌	沙门菌	白念珠菌（TSA）	黑曲霉（TSA）	白念珠菌（SDA）	黑曲霉（SDA）
稀释剂回收组/cfu	38	57	29	61	58	86	42	83	34
菌液组/cfu	56	76	45	89	67	94	39	87	36
回收比值	0.7	0.8	0.6	0.7	0.9	0.9	1.1	1.0	0.9

规定。

2.3 供试品前处理

A、B、C、D 样前处理：称取 A、B、C 样各 10 g，量取 D 样 10 mL，分别加至含无菌 **1** 20 mL 的无菌容器中，40 ℃水浴条件下振摇 10 min，然后加入稀释液 100 mL，振摇 10 min，萃取，静置使油水明显分层，取全部下层水溶液作为 1 ∶ 10 的供试液。

E 样前处理：取 E 样 4 片，共 100 cm^2，去掉防黏层，将无菌纱布覆盖在粘贴面上，剪碎，加至无菌 **1** 30 mL 中，40 ℃水浴条件下振摇至膏料完全溶解，之后同上处理。

2.4 微生物限度检查方法适用性试验

取“**2.3**”项下供试液，依据 ChP 2020 四部通则 1105、1106、1107 进行微生物限度检查方法适用性试验，建立不同剂型微生物限度检查方法。试验参照限度标准限值和菌数报告规则，制定供试液适宜的稀释度进行适用性试验，以保证检测结果能够判断供试品是否符合规定要求 [6]。试验采用药典规定的消除供试品抑菌性的方法，使各试验菌回收比值符合要求，从而建立相应品种的需氧菌总数、霉菌和酵母菌计数方法。按照控制菌检查法，依据各品种给药途径确定相应品种的控制菌检查种类。控制菌检查方法适用性应验证已消除或充分降低供试品的抑菌性，所用方法能够准确检出存在的致病菌 [7]。

2.4.1 计数方法适用性试验

依据 ChP 2020 四部通则 1105、1107 进行各样品计数方法适用性试验。

平皿法：取“**2.3**”项下适宜倍数的供试液加至试管中，每管 9.9 mL，分别加入各试验菌 0.1 mL，混匀，使含菌量≤ 100 cfu/mL，作为试验组。另分别制备供试品对照组（不加试验菌，其余同试验组）和菌液组（不加供试液，其余同试验组）。各组分别取 1 mL 注皿，平行制备 2 皿。需氧菌加入 TSA，33 ℃培养 3 d，计数；霉菌、酵母菌加入 SDA，23 ℃培养 5 d，计数。

薄膜过滤法联合中和法：取“**2.3**”项下的 A 样供试液 1 mL，加入薄膜过滤器中，用冲洗液（体积如表 2 所示）冲洗，在最后一次冲洗液中加入试验菌菌液（≤ 100 cfu），滤完取出滤膜贴于 TSA 平板（含 1 mol/L 硫酸镁溶液 1 mL）上，作为试验组。另同法制备供试品对照组（不加试验菌，其余同试验组）和菌液组（不加供试液，其余同试验组）。B、D 样仅采用薄膜过滤法，不加中和剂，冲洗体积如表 2 所示，其余同 A 样薄膜过滤法。采用薄膜过滤法检测霉菌、酵母菌时，取出滤膜贴于 SDA 平板上，培养温度和时间同平皿法。

平行试验 3 次，照下式计算各试验菌的回收比值。ChP 2020 规定回收比值应为 0.5 ～ 2.0。

回收比值 =（试验组平均菌落数 － 供试品对照组平均菌落数）/ 菌液组平均菌落数

A 样计数方法试验结果如下：需氧菌（限度标准 10^2 cfu/g），采用平皿法（1 ∶ 100），铜绿假单胞菌、白念珠菌和黑曲霉回收比值在 0.5 ～ 2.0 范围内，金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌回收比值小于 0.5。试验结果显示，金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌为本品敏感菌株。根据文献 [8] 报道，A 样为喹诺酮类抗菌药，对革兰阳性球菌有较强的抗菌活性，

表 2　各样品不同试验菌计数方法的适用性试验

Tab.2　Applicability Test of Microbial Counting Methods for Different Test Strains in Each Sample

样品	试验菌	方法	供试液稀释倍数	平皿直径/mm	冲洗液体积/mL
A	需氧菌[1)]	薄膜过滤法联合中和法	1∶10	90	300
	霉菌、酵母菌	平皿法	1∶10	90	—
B	需氧菌[2)]	薄膜过滤法	1∶10	90	400
	霉菌、酵母菌[2)]	薄膜过滤法	1∶10	90	400
C	需氧菌	平皿法	1∶50	150	—
	霉菌、酵母菌	平皿法	1∶10	90	—
D	需氧菌	薄膜过滤法	1∶10	90	300
	霉菌、酵母菌	薄膜过滤法	1∶10	90	300

注：[1)]A 样敏感菌株为金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌；[2)]B 样敏感菌株为白念珠菌。

故采用薄膜过滤法联合中和法，各试验菌回收比值在 0.5 ～ 2.0 范围内，符合方法适用性要求。霉菌、酵母菌（限度标准 10^1 cfu/g）采用平皿法（1 ∶ 10），白念珠菌、黑曲霉回收比值在 0.5 ～ 2.0 范围内，符合方法适用性要求。计数方法如表 2 所示。

B 样计数方法试验结果如下：需氧菌（限度标准 10^2 cfu/g），采用平皿法（1 ∶ 100），白念珠菌回收比值小于 0.5，其余 4 株菌均符合方法适用性要求。霉菌、酵母菌（限度标准 10^1 cfu/g）采用平皿法（1 ∶ 10），白念珠菌回收比值小于 0.5，黑曲霉符合要求。说明 B 样的敏感菌株为白念珠菌，故采用薄膜过滤法，各试验菌回收比值在 0.5 ～ 2.0 范围内，符合方法适用性要求。计数方法如表 2 所示。

C 样计数方法试验结果如下：需氧菌（限度标准 10^3 cfu/g），采用平皿法（1 ∶ 50），霉菌、酵母菌（限度标准 10^2 cfu/g），采用平皿法（1 ∶ 10），各试验菌回收比值均在 0.5 ～ 2.0 范围内，符合方法适用性要求。计数方法见表 2。

D 样计数方法试验结果如下：需氧菌（限度标准 10^2 cfu/mL），采用平皿法（1 ∶ 10、1 ∶ 20、1 ∶ 50、1 ∶ 100），霉菌、酵母菌（限度标准 10^1 cfu/mL），采用平皿法（1 ∶ 10）时的回收比值不符合要求。故采用薄膜过滤法，各试验菌回收比值均在 0.5 ～ 2.0 范围内，符合方法适用性要求。计数方法如表 2 所示。

E 样属橡胶贴膏，不进行计数方法试验，只需控制菌检查。

2.4.2 控制菌检查方法的适用性试验

依据 ChP 2020 四部通则 1106、1107 进行各样品控制菌检查方法的适用性试验，结果如下。

取“**2.3**”项下 A 样供试液（1 ∶ 10）10 mL，经薄膜过滤，每膜用冲洗液 300 mL 冲洗，滤完后取出滤膜，接种至 TSB（含 1 mol/L 硫酸镁溶液 2 mL）100 mL 中，进行金黄色葡萄球菌检查；另取供试液（1 ∶ 10）10 mL，接种至 TSB 100 mL 中，进行铜绿假单胞菌检查。

取 B 样供试液（1 ∶ 10）10 mL，经薄膜过滤，每膜用冲洗液 400 mL 冲洗，滤完后取出滤膜，接种至培养基 100 mL（金黄色葡萄球菌接种至 TSB、白念珠菌接种至 SDB）中，进行金黄色葡萄球菌、白念珠菌检查；另取供试液（1 ∶ 10）10 mL，接种至 TSB 100 mL 中，进行铜绿假单胞菌检查。

取 C 样供试液（1 ∶ 10）10 mL，接种至 TSB 300 mL 中，进行金黄色葡萄球菌检查；另取供试液（1 ∶ 10）10 mL，接种至 TSB 100 mL 中，进行铜绿假单胞菌检查。

取 D 样供试液（1 ∶ 10）10 mL，经薄膜过滤，每膜用冲洗液 300 mL 冲洗，滤完后取出滤膜，接种至 TSB 100 mL 中，进行金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌检查。

取 E 样供试液 10 mL，接种至 TSB 100 mL 中，进行金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌检查。

3 讨论

3.1 **1** 用于药品检验前处理的可行性

微生物检验过程的每一个操作环节都应有合理的证明，保证其对结果判断没有影响[9]。样品前处理是药品微生物限度检验的重要组成部分，需要证明所用的处理方法对微生物未造成破坏，未影响微生物的生长和检出，确认检验方法的有效性，以保证检验结果准确、可靠[10]。

毒性试验时在 **1** 100 mL 中加入试验菌，逐一进行微生物回收，结果各试验菌回收比值在 0.5 ～ 2.0 范围内，证明用 **1** 进行前处理对微生物无明显毒性。**1** 与供试品有良好的相容性，用量以完全溶解供试品为宜，溶解若不完全，会影响试验结果，例如 E 样前处理时 **1** 的用量就需要增加到 30 mL。5 种剂型的方法适用性试验结果验证了 **1** 选择的合理性、有效性以及前处理的可行性。

由于检测方法的局限性和微生物的多样性，尽管萃取后部分微生物在水溶液中不能完全回收，但试验结果符合药典规定，表明 **1** 用于样品制备时对微生物的影响可忽略不计。此外，已有文献[11—12]报道 **1** 用于部分剂型微生物检验的样品前处理对微生物的生长和检出没有明显影响。

3.2 **1** 用于药品前处理时取下层水溶液作为供试液的合理性

供试品萃取后分上层油相和下层水相，本研究进一步验证了取用下层水溶液进行检验的合理

性。相比于上层油相，下层水溶液更适宜微生物存活[13]。因此，污染微生物基本分散在下层水溶液中，取下层水溶液进行检验，数据能真实、客观地反映样品本身实际所含微生物的量。

3.3　1 用于药品前处理联合薄膜过滤法消除抑菌性的有效性

药品微生物限度检查中，薄膜过滤法和中和法是去除药物抑菌性的有效、重要方法[14—15]。A 样抑菌性的去除采用了 **1** 前处理联合薄膜过滤法和中和法。硫酸镁溶液作为喹诺酮类药物的中和剂，已被证明了有效性和无毒性[16]。B 样和 D 样采用 **1** 前处理后联合薄膜过滤法，用较少的冲洗量去除了药品的抑菌性。C 样采用 **1** 前处理后联合增加稀释液和培养基体积的方法消除了抑菌性。E 样采用 **1** 前处理后，控制菌检查直接接种法即可消除抑菌性。供试品经前处理后非水溶性基质和易溶于 **1** 的成分都被转移至上层油相中，亦有利于消除样品抑菌作用[17]。

3.4　1 用于药品前处理在微生物检验中的科学性

微生物方法适用性试验保证了检验结果的准确、可靠，是药品微生物检测环节不可缺少的步骤，其中检验方法直接影响检验结果的可信性[18]。本试验选取 5 种非水溶性制剂，采用 **1** 进行前处理，灵活运用抗菌活性的去除方法，各品种中 5 株试验菌的回收比值均在 0.5 ～ 2.0 范围内，控制菌检查试验组检出了相应控制菌，方法适用性试验通过，表明 **1** 可用于软膏剂、乳膏剂、栓剂、搽剂、贴膏剂的微生物限度检查。本研究全面考察了 **1** 在样品前处理、试验过程、试验条件和操作方法方面对微生物生长的影响，体现了方法适用性试验的完整性和科学性。

3.5　1 用于药品前处理的应用前景

适宜的供试液制备可提高样品检验结果的有效性和准确性，使污染微生物得以有效检出[19]。本研究将 **1** 应用于非水溶性制剂样品前处理，有效解决了供试液制备难题，并建立了操作方法简便、快捷，结果可靠且污染概率小的检验方法。此外，文献[20—21]报道在不溶于水的其他剂型，如具有抑菌性的胶囊剂、缓释和控释片剂的微生物检验中，**1** 也有良好的应用价值。综上所述，**1** 用于药品前处理有望作为非水溶性制剂微生物限度检查方法的新策略。

参考文献：

[1] 田冬梅, 史春辉, 娄志红, 等. 药品微生物计数方法及方法适用性探讨[J]. 中国药物评价, 2017, **34**(2): 97-99.

[2] 张光华, 江志杰, 刘文杰, 等. 盐酸米诺环素软膏无菌检查方法的建立[J]. 首都食品与医药, 2019, **26**(2): 162-164.

[3] 方　李, 张心悦, 吴晶晶, 等. 13 种软膏剂微生物限度检查的方法验证探讨[J]. 中国药师, 2014, **17**(9): 1580-1583.

[4] 管　敏, 周琴妹. 3 种含重金属制剂的微生物限度检查方法的验证[J]. 中国中医药信息杂志, 2016, **23**(7): 101-103.

[5] 刘冬玲, 蒋　波, 刘　浩. 西罗莫司口服溶液微生物限度检查方法的探讨[J]. 中国医药工业杂志, 2017, **48**(5): 730-734.

[6] 杨晓莉, 李　辉, 马英英, 等. 中国药典 2015 年版非无菌产品微生物限度检查: 微生物计数法解读[J]. 药物分析杂志, 2016, **36**(6): 1101-1107.

[7] 蒋受军, 刘　涛, 朱　斌, 等. 国产克霉唑乳膏微生物限度检查方法研究及卫生状况评价[J]. 中国药房, 2011, **22**(33): 3126-3128.

[8] 马新军, 汪晓静. 曲安奈德益康唑乳膏联合莫匹罗星软膏治疗外耳道真菌病的临床分析[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2022, **28**(1): 103-105.

[9] 绳金房, 马仕洪. 药品微生物检验方法[M]. 西安: 西安交通大学出版社, 2017: 24-26.

[10] 马仕洪, 肖　璜, 袁　宇, 等. 泊沙康唑注射液无菌检查方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2018, **38**(9): 1568-1572.

[11] 张光华, 李玉立, 牛振东, 等. 富马酸二甲酯肠溶胶囊微生物限度方法学的研究[J]. 首都食品与医药, 2020, **27**(10): 198-200.

[12] 郑小玲, 王征南, 李　珏. 瑞他莫林软膏的微生物限度检查适用性试验[J]. 中国现代应用药学, 2016, **33**(5): 634-637.

[13] 琚滢鋆, 李亚东, 朱小磊. 不同辅料硝酸咪康唑乳膏微生物限度检查方法适用性研究[J]. 中南药学, 2021, **19**(9): 1938-1941.

（下转第276页）

参考文献：

[1] FDA. Guidance documents: container closure systems for packaging human drugs and biologics [EB/OL]. [2022-09-01]. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/container-closure-systems-packaging-human-drugs-and-biologics.

[2] 王冬伟, 张　博, 张　翔, 等. 无菌药品包装系统密封完整性研究焦点问题的分析[J]. 中国药事, 2022, **36**(2): 133-138.

[3] 杨梦雨, 赵　霞, 孙会敏. 无菌制剂容器密封完整性检测技术和相关法规研究进展[J]. 中国新药杂志, 2022, **31**(3): 245-250.

[4] 国家药品监督管理局药品审评中心. 化学药品注射剂包装系统密封性研究技术指南(试行)[EB/OL]. [2022-09-01]. http://www.cde.org.cn/news.do?method=largeInfo&id=25e20e27564a85cf.

[5] 陆维怡, 李凌梅, 罗　娜. 液下气泡法考察塑料软袋包装注射用水的密封完整性[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(8): 1192-1195.

[6] SIMONETTI A, SABOURIN P. Non-destructive vacuum decay method for pre-filled syringes closure integrity testing compared with dye ingress testing and high voltage leak detection [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2015, **69**(1): 108-122.

[7] WOLF H, STAUFFER T, CHEN S C, *et al*. Vacuum decay container/closure integrity testing technology: part 2 comparison to dye ingress test [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2009, **63**(5): 489-498.

[8] PDA. Technical report No. 27 pharmaceutical packaging integrity [J]. *PDA J Pharm Sci Technol*, 1998, **52**(4): 112.

[9] FDA. Container and closure system integrity testing in lieu of sterility testing as a component of the stability protocol for sterile products, guidance for industry [EB/OL]. [2022-09-01]. https://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/FDA-2008-D-0060-GDL.pdf.

[10] ASTM. Standard test method for nondestructive detection of leaks in packages by vacuum decay method: ASTM F2338-09 [S]. 2013-09-10.

[11] 国家药品监督管理局. 无菌医疗器械包装试验方法第18部分: 用真空衰减法无损检验包装泄漏: YY/T 0681.18—2020 [S]. 2020-03-31.

[12] 王　妮, 黄思嘉, 王　静, 等. 注射剂瓶容器密封完整性: 微生物挑战法与色水法的关联比较分析[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(2): 246-252.

[13] 王冬伟, 张　磊, 张祥龙, 等. 真空衰减法测试西林瓶药品包装的密封完整性[J]. 中国药事, 2020, **34**(5): 589-595.

(上接第258页)

[14] 闵　红, 杨晓莉, 李　翠, 等. 阿莫西林胶囊微生物检查方法学研究[J]. 中国抗生素杂志, 2019, **44**(2): 218-223.

[15] 曹寒梅, 蔡　虎, 杨晓莉, 等. 氧氟沙星胶囊微生物限度检查方法的建立[J]. 中国药业, 2019, **28**(16): 35-38.

[16] 孙冰清, 姜　芹, 张　妤, 等. 硫酸镁在恩诺沙星注射液无菌检查中的应用[J]. 中国抗生素杂志, 2020, **45**(10): 1049-1052.

[17] 李　辉, 杨晓莉, 刘立科, 等. 3 种咪唑类抗真菌乳膏剂微生物限度检查方法学研究[J]. 药物评价研究, 2021, **44**(4): 721-727.

[18] 杨晓东, 毛　晖, 李宏铎, 等. 磷酸左奥硝唑酯二钠微生物限度检查方法的适用性研究[J]. 华西药学杂志, 2019, **34**(1): 104-106.

[19] 余　凡, 高　翔. 均匀分散的抗菌类药品供试液及其上清液对菌落回收的影响[J]. 中国药业, 2019, **28**(18): 21-24.

[20] 董自艳, 易大为, 张亚杰. 利福平胶囊的微生物限度检查方法的研究[J]. 中国抗生素杂志, 2019, **44**(2): 233-236.

[21] 刘　鹏, 马仕洪, 戴　翠, 等. 普那霉素片微生物限度检查方法的建立[J]. 药物分析杂志, 2010, **30**(2): 303-306.