

落而造成远端末梢栓塞,术后急性动脉血栓形成,夹层等并发症;支架置放也会造成如动脉破裂、覆盖侧支循环、支架内血栓形成、支架移位及支架内动脉内膜增生再狭窄等并发症。本组曾有1例在手术过程中发生导丝误入动脉内膜下造成血管夹层的情况,但用支架覆盖后夹层被封闭。对于以上所述并发症,可行的预防措施有:①术中掌握球囊扩张压力和范围,予扩张直径以能通过支架即可;②用支架完全覆盖扩张后的血管内膜,如狭窄段不能完全撑开,再次球囊扩张。

参考文献

1 Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working

Group. TransAtlantic Inter - Society Consensus (TASC). J Vasc Surg, 2000,31(1):S98 - S104

2 Cron J, Cron C, Cron JP. Aortofemoral bypass: gold - standard or outdated. J Mal Vasc, 2003, 28: 258 - 264

3 王玉琦,曲乐丰. 下肢动脉硬化闭塞症外科治疗的评估. 外科理论与实践, 2001, 6(5): 269 - 272

4 Bolia A, Miles KA, Brennan J, et al. Percutaneous transluminal angioplasty of occlusion of the femoral and popliteal arteries by subintimal dissection. Cardiovasc Intervent Radiol, 1990, 13(6): 357 - 363

5 刘昌伟,叶炜. 下肢动脉硬化性闭塞症的规范化治疗探讨. 中国医学科学院学报, 2007, 29(2): 12 - 15

(收稿:2009-09-17)

四环素眼膏微生物限度检查法研究

林丽英 黄 灿

摘 要 **目的** 建立四环素眼膏的微生物限度检查法。**方法** 采用培养基稀释法、萃取+薄膜过滤法,测定四环素眼膏对5种试验菌株的回收率,并对控制菌检查法进行验证。**结果** 真菌及酵母菌数采用培养基稀释法检查,细菌数、控制菌可采用萃取+薄膜过滤法检查。**结论** 该方法可有效检出四环素眼膏中污染的微生物,为更好地评价四环素眼膏的有效性和质量的控制提供科学的依据。

关键词 四环素眼膏 微生物限度检查 方法研究

Study on Microbial Limit Test Method for Tetracycline Ointment. Lin Liying, Huan Can. Guangdong Institute For Drug Control, Guangdong 510180, China

Abstract Objective To construct the microbial limit test method for tetracycline ointment. **Methods** The medium dilution method and extracting binding membrane filtration method were used in the recovery rate and control bacterial test of tetracycline ointment. **Results** The counting of mould and yeast could be tested by the medium dilution. Extracting binding membrane filtration method could help to bacterial counting and detection of control bacterial. **Conclusion** The method can detect the microbial contamination of tetracycline ointment effectively, which supplies the scientific data for the better evaluation of the validity and quality control to tetracycline ointment.

Key words Tetracycline ointment; Microbial limit test; Method validation

本品主要成分为四环素。其化学名称为:6-甲基-4-(二甲氨基)-3,6,10,12,12a-五羟基-1,11-二氧代-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-八氢-2-并四苯甲酰胺。是广谱抑菌剂,高浓度时具杀菌作用。许多立克次体属、支原体属、衣原体属、螺旋体对本品敏感。临床上常用于敏感病原菌所致结膜炎、眼脸炎、角膜炎、沙眼等。作用机制为药物能特异性地与细菌核糖体30S亚基的A位置结合,抑制肽链的增长和影响细菌蛋白质的合成^[1]。本品具有很强的抗菌活性,但对某些非敏感或耐药性菌株可能会存在于

其制剂中,这必将影响其治疗效果,且将对患者造成潜在危害。因此有必要为本品建立微生物检限度查法,便于控制其质量,保证患者用药安全^[2]。本研究实验采用培养基稀释法、萃取+薄膜过滤法来消除其对细菌的抑制性,可为同类药品的微生物限度检查法提供科学的实验依据。

材料与方法

1. 菌种:金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、大肠杆菌[CMCC(B)44102]、枯草芽胞杆菌[CMCC(B)63501]、铜绿假单胞菌(pseudomonas aeruginosa)(CMCC(B)10104)、白色念珠菌[CMCC(F)10123];均购自中国药品生物制品检定所;黑曲霉(ATCC16404)购自于广东省微生物研究所。

2. 培养基:营养琼脂培养基、玫瑰红钠琼脂培养基、营养肉汤培养基、改良马丁培养基、改良马丁琼脂培养基、胆盐乳

基金项目:广东省药品检验所资助项目(SN20076102)

作者单位:510180 广州,广东省药品检验所

糖培养基、十六烷基溴化铵琼脂培养基。均购自中检所监制的北京三药有限公司。

3. 供试品: 四环素眼膏(批号: 20080325), 芜湖三益制药有限公司(购自药店)。

4. 仪器: 集菌仪: 杭州泰林医疗器械厂, HTY-K 型; 一次性薄膜过滤器: 北京牛牛基因技术有限公司, 型号 NS01-75D1t。

5. 菌液的制备^[3]: 按《中国药典》2005 年版二部附录“微生物限度检查法”项下, 制成 50~100cfu/ml 的菌悬液。

6. 供试液的制备^[4]: 取本品 10g, 用 20ml 45℃ 灭菌的十四烷酸丙酯溶解后, 加入 100ml 45℃ 灭菌的 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液, 用力振摇约 5min, 静置, 使明显分层, 取水层(下层)作为 1:10 供试液。

7. 方法验证: (1) 真菌和酵母菌计数检查法的验证: 试验组: 分别取 1:10 供试液 1ml、0.5ml 与菌悬液 1ml(白色念珠菌或黑曲霉)注入同一灭菌平皿中, 迅速倒入 15~20ml 45℃ 左右的玫瑰红钠琼脂培养基, 待凝。在 23~28℃ 培养箱中培养 72h, 点计菌落数, 每个菌株每个稀释级各制备 2 个平皿, 取均值。菌液组: 取菌悬液 1ml 加入灭菌平皿中, 立刻加入 15~20ml 45℃ 左右的玫瑰红钠琼脂培养基, 各菌株平行制备 2 个平皿, 取均值。测定加入的试验菌数。供试品本底菌组: 按试验组的方法, 不加菌液, 测定供试品菌数。回收率(%)=[(试验组菌数-供试品本底菌组菌数)/菌液组菌数]×100%。真菌和酵母菌计数回收率见表 1。由表 1 可以看出, 要白色念珠菌和黑曲霉 3 次回收率均达到 70% 以上, 应采用 0.5 毫升/皿的稀释级。即本品的真菌及酵母菌数检查可采用培养基稀释法(0.5 毫升/皿)。(2) 细菌计数检查法的验证: 由于本品是广谱抗生素, 因此细菌计数法验证直接采用薄膜过滤法^[5], 但供试品的特性使样品不能直接过滤, 在过滤前必须对供试品进行前处理。本实验采用十四烷酸丙酯溶解后, 再用 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液萃取(见供试液制备)。试验组: 取 1:10 供试液 1ml 加入 100ml pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液中, 摇匀, 用薄膜过滤器过滤(滤膜先用稀释液湿润), 滤干后再用 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液 300ml、400ml 分 3、4 次冲洗滤膜, 在最后一次中加入相应试验菌液 1ml, 滤干后, 取出滤膜, 截菌面朝上贴于营养琼脂培养基平板上, 每个菌株(大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽胞杆菌)至少各制备 1 个平皿, 置培 32~35℃ 养箱培养 48h, 点计菌落数。菌液组: 取菌液 1ml 加入平皿中, 加入 100ml pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液中, 滤干。取出滤膜, 截菌面朝上贴于营养琼脂培养基平板上, 培养, 测定加入的试验菌数。供试品本底菌组: 按试验组的方法, 不加菌液, 测定供试品菌数。稀释剂对照组: 取配制好的菌悬液, 从供试液制备开始, 按试验组操作, 测定各菌株回收率, 结果见表 2。由表 2 可以看出, 细菌计数采用萃取+薄膜过滤法, 稀释剂对照组回收率达到药典要求的 70% 以上, 当冲洗量达到 400ml 时, 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽胞杆菌 3 个菌株 3 次的回收率均可达到 70% 以上。说明本品可采用该方法检查样品中污染的细菌数。

(3) 制菌检查的方法验证: 本品为外用制剂, 按《中国药典》2005 年版规定, 控制菌必须检查铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌, 方法验证如下: ①铜绿假单胞菌检查法的验证: 试验组: 取 1:10 供试液 10ml, 加入 100ml pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液中, 摇匀, 用薄膜过滤器过滤(滤膜先用稀释液湿润), 滤干后再用 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液 400ml 分 4 次冲洗滤膜, 在最后一次中加入铜绿假单胞菌菌悬液 1ml, 滤干后, 加入 100ml 胆盐乳糖增菌培养基, 按铜绿假单胞菌检查法检查。阴性菌对照组: 取 1:10 供试液 10ml, 加入 100ml pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液中, 摇匀, 用薄膜过滤器过滤(滤膜先用稀释液湿润), 滤干后再用 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液 400ml 分 4 次冲洗滤膜, 在最后一次中加入大肠杆菌菌悬液 1ml, 滤干后, 加入 100ml 胆盐乳糖增菌培养基, 按铜绿假单胞菌检查法检查。②金黄色葡萄球菌检查法的验证: 试验组: 取 1:10 供试液 10ml, 加入 100ml pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液中, 摇匀, 用薄膜过滤器过滤(滤膜先用稀释液湿润), 滤干后再用 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液 400ml 分 4 次冲洗滤膜, 在最后一次中加入金黄色葡萄球菌菌悬液 1ml, 滤干后, 加入 100ml 营养肉汤增菌培养基, 按金黄色葡萄球菌检查法检查。阴性菌对照组: 取 1:10 供试液 10ml, 加入 100ml pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液中, 摇匀, 用薄膜过滤器过滤(滤膜先用稀释液湿润), 滤干后再用 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液 400ml 分 4 次冲洗滤膜, 在最后一次中加入大肠杆菌菌悬液 1ml, 滤干后, 加入 100ml 营养肉汤增菌培养基, 按金黄色葡萄球菌检查法检查。结果见表 3。由表 3 可见, 各控制菌试验菌均能顺利检出, 阴性菌对照未检出阴性对照菌, 说明所建立检查法成立。

表 1 真菌和酵母菌回收率(%)

验证次数	验证菌株	1 毫升/皿	0.5 毫升/皿
1	白色念珠菌	49	85
	黑曲霉	95	93
2	白色念珠菌	56	91
	黑曲霉	88	95
3	白色念珠菌	72	84
	黑曲霉	94	92

表 2 细菌的回收率(%)

验证次数	验证菌株	冲洗量	冲洗量	稀释剂 对照组
		(300ml)	(400ml)	
1	大肠杆菌	80	82	74
	金黄色葡萄球菌	75	88	71
	枯草芽胞杆菌	68	87	70
2	大肠杆菌	75	89	81
	金黄色葡萄球菌	78	85	80
	枯草芽胞杆菌	70	75	72
3	大肠杆菌	85	79	89
	金黄色葡萄球菌	72	81	78
	枯草芽胞杆菌	67	77	74

表 3 控制菌验证结果

控制菌	验证菌种名称	菌种代数	验证加菌数 (cfu)	采用方法	结果	结论
铜绿假单胞菌	铜绿假单胞菌	3	71	薄膜过滤法	检出	方法成立
	大肠杆菌	3	51		未检出	
金黄色葡萄球菌	金黄色葡萄球菌	3	88	薄膜过滤法	检出	方法成立
	大肠杆菌	3	51		未检出	

根据上述研究结果,建立四环素眼膏的微生物限度检查法如下:真菌及酵母菌数检查,采用培养基稀释法(0.5 毫升/皿);细菌数检查和控制菌(铜绿假单胞菌和金黄色葡萄球菌)检查,采用萃取+薄膜过滤法(冲洗量为 400 毫升/膜)。稀释剂和冲洗液均为 pH7.0 氯化钠-蛋白胨水溶液。

讨 论

四环素眼膏主要用于由敏感病原菌所致结膜炎、眼睑炎、角膜炎、沙眼等眼疾。由于多年来四环素类的广泛应用,临床常见病原菌对四环素耐药现象严重,葡萄球菌等革兰阳性菌及多数肠杆菌科细菌耐药^[6],因此本品污染微生物的可能性是存在的,特别是对本品耐药和非敏感菌株的污染。药品污染了微生物,将可能对患者造成巨大的危害。前几年有报道,在医院眼科手术中,由于铜绿假单胞菌的感染,使得有患者不得不摘掉眼球,这一教训触目惊心,本来是要治眼病的,结果却连眼睛都给搭上,由此可见眼科用药对微生物污染控制的重要性。为了防止类似事件的发生,《中国药典》2005 年版附录“微生物限度

检查”中的限度标准对 2000 年版附录“微生物限度检查”中的标准作了修订,对抗生素品种由原来的抗细菌药只检真菌、抗真菌药只检细菌修订为全部品种都必须检查细菌和真菌,以确保患者的用药安全。本实验通过对四环素微生物限度检查法的建立,将可更好地控制其质量,保障人民用药的安全性。也可为同类产品微生物限度法提供很好的实验依据。

参考文献

- 1 杨世杰,杨宝峰,王怀良.药理学.北京:人民卫生出版社,2005:437-441
- 2 许华玉,杜鹃,汤杨.药品中微生物污染检测方法验证的必要性.中国药品标准,2005,6(4):46-47
- 3 国家药典委员会.中国药典(2005 年版)二部[S].北京:化学工业出版社,2005:附录 94
- 4 苏德模,马绪荣.药品微生物学检验技术.北京:华龄出版社,2007:209-215
- 5 林丽英,饶春意.抗生素无菌检查法冲洗量的探讨.中国药品标准,2005,5:50
- 6 赵香兰,黄民.临床药理学.北京:中山大学出版社,2003:186

(收稿:2009-10-13)

欢迎订阅 2010 年《中国卫生政策研究》杂志

《中国卫生政策研究》杂志是中华人民共和国卫生部主管,中国医学科学院主办,中国医学科学院医学信息研究所和中国医学科学院卫生政策与管理研究中心承办的卫生政策与管理专业学术期刊,国际标准连续出版物号为 ISSN 1674-2982,国内统一刊号为 CN 11-5694/R。

《中国卫生政策研究》杂志以“传播政策、研究政策、服务决策”为办刊方针,及时报道卫生政策研究最新成果和卫生改革发展新经验,促进卫生政策研究成果的传播利用及卫生政策研究者与决策者的交流合作,提高卫生政策研究理论水平和实践能力,为政府科学决策、改进卫生绩效和促进卫生事业发展提供重要学术支撑。主要适合各级卫生行政部门和卫生事业单位管理者、卫生政策与管理相关领域的专家学者和实践者、高等院校相关专业的师生等阅读。主要栏目有:院士述评、医药卫生体制改革、卫生发展战略、卫生政策研究、国际卫生保健、医疗保障、社区卫生、农村卫生、医院管理、药物政策、公共卫生、理论探索、经验借鉴、书评等。

《中国卫生政策研究》杂志为月刊,每月 25 日出版,国内外公开发行,每期 64 页,大 16 开本,进口高级铜版纸彩封印刷,印装精美,定价 15 元/册,全年 180 元(含邮资)。全国各地邮局均可订阅,邮发代号 80-955;也可向编辑部订阅,汇款地址:北京市朝阳区雅宝路 3 号医科院信息所《中国卫生政策研究》编辑部(100020)。编辑部电话:010-52328667,010-52328670;传真:010-52328670;E-mail: cjhp@imicams.ac.cn。