

# 《美国药典》《欧洲药典》《日本药典》与《中国药典》中中药饮片微生物限度检查及标准的比较研究<sup>△</sup>

范一灵\*,李琼琼,秦峰,刘浩,杨美成<sup>#</sup>(上海市食品药品检验所/国家药品监督管理局药品微生物检测技术重点实验室,上海 201203)

中图分类号 R921;R927.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2020)22-2695-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.22.02

**摘要** 目的:比较《美国药典》43版(USP43)、《欧洲药典》10.0版(EP10.0)、《日本药典》17版(JP17)与《中国药典》2020年版(ChP2020)中中药饮片微生物限度检查方法及标准的差异,为我国中药饮片相关微生物标准的修订和完善提供参考。方法:比较USP43、EP10.0、JP17和ChP2020在中药饮片的微生物计数法(包括抽样与取样、菌种和培养基选择、微生物和耐热菌计数等)、控制菌检查(包括样品前处理、增菌、分离、鉴定等)、微生物相关限度标准等方面的差异。结果与结论:在中药饮片微生物的检查方法上,USP43、EP10.0、JP17都有各自独立的规定,ChP2020则新增了“通则1108”。在检验项目上,除需氧菌总数、霉菌和酵母菌总数外,ChP2020与EP10.0规定了3种控制菌(耐胆盐革兰阴性菌、大肠埃希菌、沙门菌)的检查方法;在此基础上,JP17补充了金黄色葡萄球菌的检查方法;USP43增加了梭菌的检查方法,并最早提出不可接受微生物风险评估理念;ChP2020还新增了耐热菌计数方法。在微生物限度标准上,USP43对中药饮片的分类最为细致,要求较为严格且高于EP10.0、JP17;ChP2020仍未对中药饮片控制菌检查设立统一的限度标准。虽然,ChP2020对“中药提取物及中药饮片的微生物限度标准”进行了修订,但相较于美国、欧洲和日本药典的规定还不完善。建议根据我国中药饮片微生物污染和控制现状,逐步完善药典对中药相关产品的微生物检验和限度标准,合理细化相应产品的微生物限度水平。

**关键词** 中药饮片;药典;微生物检查;限度标准;比较研究

## Comparative Study of Microbial Limit Test and Criteria of TCM Decoction Pieces among *United States Pharmacopeia*, *European Pharmacopeia*, *Japanese Pharmacopeia* and *Chinese Pharmacopeia*

FAN Yiling, LI Qionqiong, QIN Feng, LIU Hao, YANG Meicheng (Shanghai Institute for Food and Drug Control/NMPA Key Laboratory for Testing Technology of Pharmaceutical Microbiology, Shanghai 201203, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To compare the difference of microbiological limit test and criteria of TCM decoction pieces among 43 edition of *United States Pharmacopeia* (USP43), 10.0 edition of *European Pharmacopeia* (EP10.0), 17 edition of *Japanese Pharmacopeia* (JP17) and 2020 edition of *Chinese Pharmacopeia* (ChP2020), and to provide reference for the revision and improvement of microbiological standards for TCM decoction pieces in China. METHODS: The differences in the microbial enumeration tests method (including sampling and sample preparation, selection of bacteria and culture medium, count of microorganisms and heat-resistant bacteria, etc.), tests for specified microorganisms (including sample pretreatment, enrichment, separation and identification, etc.) and microbial related limit criteria were compared among USP43, EP10.0, JP17 and ChP2020. RESULTS & CONCLUSIONS: In terms of microbiological examination of TCM decoction pieces, USP43, EP10.0, JP17 had their own independent provisions. Chp2020 added “general rule 1108”. In terms of inspection items, in addition to the total aerobic bacteria count and total combined yeasts and molds count, ChP2020 and EP10.0 provided three methods for the inspection of control bacteria (bile-resistant Gram-negative bacteria, *Escherichia coli*, *Salmonella*). On the basis, JP17 supplemented *Staphylococcus aureus* test; However, USP43 added *Clostridium* test method and put forward the concept of objectionable microorganisms risk assessment; ChP2020 also added a new method for counting heat-resistant bacteria. In terms of microbial limit criteria, USP43 was the most detailed in the classification of TCM decoction pieces, which was more strict than EP10.0 and JP17; ChP2020 had not set up a unified limit for the inspection of control bacteria of TCM decoction pieces. ChP2020 revised the “microbial limit standard for TCM extracts and TCM decoction pieces”, but it was not perfect compared with the Pharmacopoeia of the United States, Europe and Japan. It is suggested that according to the current situation of microbial contamination and control

of TCM decoction pieces, the microbial limit test and criteria of TCM related products in Pharmacopoeia should be gradually improved, and the microbial limit level of corresponding products should be reasonably refined.

**KEYWORDS** TCM decoction piece; Pharmacopoeia; Microbial limit test; Limit criteria; Comparative study

<sup>△</sup> 基金项目:国家药典委员会科研课题

\* 主管技师,硕士。研究方向:食品、药品微生物检测与方法。电话:021-38839900。E-mail:tcfyl@163.com

<sup>#</sup> 通信作者:主任药师,硕士生导师,博士。研究方向:实验室质量管理、药物分析、微生物学检验。电话:021-38839900。E-mail:yang-meicheng@vip.sina.com

中药饮片是由中药材通过炮制加工而成的可直接用于中医临床的产品,其大多源自天然植物、动物或矿物,通常携带有大量微生物<sup>[1-2]</sup>。多数中药饮片的炮制过程简单(如净制、炒制等),灭菌不完全,使得具有致病力的微生物有所残余<sup>[3-4]</sup>;此外,在运输和贮存过程中,与操作人员及外部非洁净环境的接触也增加了中药饮片受致病微生物污染的可能,从而使其安全性受到影响<sup>[5]</sup>。

中药饮片的微生物污染情况尚未得到足够的关注,对其加工过程中微生物种群变化的研究也较为缺乏,这导致了中药饮片微生物安全性评价的缺失。许多潜在的致病微生物(如耐热菌和细菌毒素等)未能得到有效控制,增加了免疫力低下患者在使用中药饮片过程中的风险<sup>[6]</sup>。虽然2015年版《中国药典》(一部)收录了中药饮片品种理化性质分析的多种鉴别和检查方法,但相关微生物的具体检查方法和限度标准却长期处于缺失状态;同时,在2015年版《中国药典》(四部)通则中,除直接入口的中药饮片外,并未规定其余形式中药饮片的微生物相关检查项目<sup>[7]</sup>。

中药在欧洲被称为植物药,在日本被称为生药,在美国被归为营养补充剂,虽然其概念与我国的中药饮片不完全相同<sup>[8-9]</sup>,但在《欧洲药典》10.0版(EP10.0)<sup>[10]</sup>、《日本药典》17版(JP17)<sup>[11]</sup>和《美国药典》43版(USP43)<sup>[12]</sup>中都分别明确记载了相关产品(植物药、生药或营养补充剂)的微生物检查方法及限度标准。2020年版《中国药典》(ChP2020)(四部)<sup>[13]</sup>增加了“中药饮片微生物限度检查法”(通则1108),但相关的微生物限度标准还不完善,而且对煎煮类中药饮片的微生物限度标准亦未作出统

一、明确的规定。本文通过比较USP43、EP10.0、JP17和ChP2020在中药饮片微生物检查方法和限度标准等方面的差异,了解中药饮片微生物标准的修订方向,探讨对中药饮片按其风险等级设立微生物限度的必要性,以期为我国中药饮片微生物控制相关标准的修订和完善提供参考。

## 1 中药饮片微生物计数

笔者通过对EP10.0、JP17、USP43和ChP2020中与中药饮片相关的微生物检验方法进行比较后发现,虽然前3部药典在非无菌产品微生物检查部分进行了国际间的协调与融合,但在中药饮片微生物的检查上,三者均有各自独立的章节规定,如EP10.0“2.6.12”和“2.6.31”、JP17“5.02”、USP43“2021”和“2022”,而ChP2020则新增了“通则1108”用于检测中药饮片中的微生物。在检测项目上,4部药典均规定了需氧菌总数(Total aerobic microbial count, TAMC)、霉菌和酵母菌总数(Total combined yeasts and moulds count, TYMC)的检查方法,其主要区别体现在抽样与取样、菌种和培养基、微生物计数方法等方面,详见表1。

### 1.1 抽样与取样

中药饮片种类繁多,形状、质地和大小各异,加之微生物污染具有不均匀的特点,因此抽样和检验取样的代表性至关重要<sup>[14]</sup>。4部药典在“抽样与取样”的规定上有明显区别。其中,EP10.0“2.6.12”<sup>[10]</sup>和USP43“2021”<sup>[12]</sup>对中药饮片抽样的要求与化学药品相同,取样量为10 g或10 mL。JP17“5.02”<sup>[11]</sup>规定了4种针对中药饮片的抽样方式,分别为:(1)小体积或粉末状样品,取50~250 g样

表1 USP43、EP10.0、JP17和ChP2020中关于中药饮片微生物计数方法的比较

Tab 1 Comparison of microbial enumeration tests of TCM decoction pieces among USP43, EP10.0, JP17 and ChP2020

项目	USP43“2021”	EP10.0“2.6.31”	JP17“5.02”	ChP2020“通则1108”
抽样方法	未规定	未规定	规定了4种抽样方式	参照药材和饮片取样法
取样量	10 g或10 mL	与USP43相同	与USP43相同	25 g或25 mL
缓冲液和稀释液	pH 7.2 磷酸盐缓冲液(PBS)或胰酪大豆胨液体(TSB)培养基	pH 7.2 PBS, pH 7.0 氯化钠蛋白胨缓冲液或TSB培养基	与EP10.0相同	与EP10.0相同
样品准备	固体:磨粉 液体:直接分散 可乳化产品:使用乳化剂搅拌,可加热溶解	未特殊规定	分散或溶解,悬液应振荡10 min;可加入表面活性剂,必要时调节pH至6~8	与JP17相同,振摇≥15 min
培养基	胰酪大豆胨琼脂(TSA)和沙氏葡萄糖琼脂(SDA)培养基	与USP43相同	TSA培养基可添加三苯基氯化四氮唑(TTC)和(或)两性霉素B;含抗生素SDA培养基可添加玫瑰红	与USP43相同,可使用含抗生素(氯霉素、庆大霉素)的SDA或其他培养基
菌种	金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、枯草芽孢杆菌、白色念珠菌、巴西曲霉	将大肠埃希菌变为铜绿假单胞菌;其余与USP43相同,增加等效菌株	与EP10.0相同	与EP10.0相同,但使用我国医学细菌保藏管理中心(CMCC)菌种
检测方法	膜过滤法、平皿计数法(倾注)、最大可能数法(MPN)	膜过滤法、平皿计数法(倾注、涂布)、MPN法	与EP10.0相同	平皿计数法(倾注)
方法适用性	样品中添加微生物的数量25~250 CFU 回收率>70%	样品中添加微生物的数量≤100 CFU 回收率因子为2	与EP10.0相同	与EP10.0相同
样品检测培养条件	TSA培养基:30~35℃,48~72 h; SDA培养基:20~25℃,5~7 d	平皿计数法:TSA培养基为30~35℃,3~5 d; SDA培养基为20~25℃,5~7 d MPN法:所有培养基30~35℃,3~5 d	平皿计数法:TSA培养基为30~35℃,5~7 d,SDA培养基为20~25℃,5~7 d MPN法:与EP10.0相同	与EP10.0平皿计数法相同;未规定MPN法
计数范围	30~300 CFU	未规定	TAMC<250 CFU TYMC<50 CFU	TAMC<300 CFU TYMC<100 CFU
耐热菌计数	未规定	未规定	未规定	新增

品混匀；(2)大体积样品，取250~500 g样品混匀并切碎；(3)单个样品不少于100 g，至少取5个或500 g，切碎后混匀；(4)以溶液或制剂形式的样品混匀后直接取样。从上述混匀的样品中取10 g或10 mL作为样品检验。ChP2020“通则1108”<sup>[13]</sup>则指出，“除另有规定外，参照药材和饮片取样法（‘通则0211’）抽取试验样品，大包装饮片每批抽取100~500 g，混匀；独立小包装饮片按装量抽取100~500 g的包装数；检验量除另有规定外均为25 g或25 mL，贵重品种或密度较小品种可酌减”。

## 1.2 菌种和培养基选择

在菌种选择方面，USP43列出了包含金黄色葡萄球菌 ATCC 6538、大肠埃希菌 ATCC 8739、枯草芽孢杆菌 ATCC 6633、白色念珠菌 ATCC 10231 和巴西曲霉 ATCC 16404 在内的5种微生物用于培养基适用性和方法适用性检查<sup>[12]</sup>。EP10.0 和 JP17 将大肠埃希菌更换为铜绿假单胞菌 ATCC 9027，并对上述各菌种给出了英国食品工业与海洋细菌菌种保藏中心(National Collections of Industrial, Food and Marine Bacterial, NCIMB)、法国巴斯德研究所菌种保藏中心(Collection de L'Institut Pasteur Of Institut Pasteur, CIP)和日本生物资源中心(NITE Biological Resource Center, NBRC)的等效菌株编号，该规定与人用药品注册技术要求国际协调会议(International Council for Harmonization, ICH)的协调案一致<sup>[10-11]</sup>。ChP2020的菌种种类与EP10.0 和 JP17 相同，但仅允许使用CMCC菌种<sup>[13]</sup>。

在培养基的选择上，除采用TSA培养基和SDA培养基作为常规计数培养基外，考虑到中药饮片常常存在较多的不溶性物质和较高的细菌、真菌污染概率，上述因素均有可能影响TAMC和TYMC计数结果，JP17还规定可在TSA培养基中可添加一定浓度的TTC以用于区分细菌菌落和其他杂质；如真菌生长影响样品TAMC计数结果，可在TSA培养基中添加两性霉素B以抑制真菌生长；如真菌在含抗生素的SDA培养基中蔓延生长，则可添加玫瑰红成分以抑制蔓延现象<sup>[11]</sup>。ChP2020规定当TYMC计数受细菌生长影响时，可使用含抗生素(如氯霉素、庆大霉素)的SDA培养基或其他选择性培养基(如玫瑰红钠琼脂培养基)<sup>[13]</sup>。但USP43和EP10.0均未明确提及相关要求。

## 1.3 微生物计数方法

在微生物计数方法上，EP10.0 和 JP17 均规定了4种计数方法，分别为膜过滤法、平皿计数法(倾注、涂布)以及MPN法<sup>[10-11]</sup>；USP43没有规定平皿计数法(倾注)<sup>[13]</sup>，而ChP2020仅规定了平皿计数法(倾注)<sup>[13]</sup>。由于MPN法的准确性较低，对真菌的计数极不可靠，因此MPN法仅适合于其他计数方法都不适用的情况，且仅能用于TAMC计数。在方法适用性方面，检验前应开展方法适

用性考察，USP43要求适用性的菌数回收率>70%<sup>[12]</sup>，其他3部药典均采用回收率因子为2的规定<sup>[10-11,13]</sup>。各药典对TAMC计数和TYMC计数的培养温度要求均一致，但对培养时间和菌落适宜计数范围的规定略有不同。

## 1.4 耐热菌计数

中药饮片在服用前一般需经加热处理，虽然加热可以减少样品的生物负载、降低致病风险，但加热处理并不能杀灭中药饮片中的耐热菌，同时容易导致产品腐败变质及生物毒素累积。因此，ChP2020增加了耐热菌计数项目，其定义为“置水浴(98~100℃)30 min处理后按需氧菌总数测定方法检出的微生物总称”<sup>[13]</sup>。该方法针对的是煎煮类中药饮片，评估了该类中药饮片在加热处理后残留微生物的情况；而其他3部药典均未记载相关方法。

## 2 控制菌检查

控制菌检查是中药饮片检查的重要项目。4部药典共同规定的控制菌检查项目有耐胆盐革兰阴性菌、大肠埃希菌和沙门菌<sup>[10-13]</sup>，其检查方法比较见表2。需要指出的是，USP43将耐胆盐革兰阴性菌归在微生物计数检查“2021”。此外，在USP43和JP17中增加了金黄色葡萄球菌的检查方法；USP43还补充了梭菌的检查方法，并最早提出了不可接受微生物风险评估的理念。此外，USP43在中药饮片控制菌检查法中仅介绍了培养基适用性试验原理，并未明确具体操作方法，也未要求开展方法适用性试验；而EP10.0、JP17和ChP2020均对培养基适用性试验和方法适用性试验进行了较为详细的介绍。

### 2.1 耐胆盐革兰阴性菌

在前处理中，与其余药典采用TSB培养基作为稀释液不同，USP43增加了pH 7.2 PBS作为稀释液。虽然，各药典对样品复苏时间的要求略有不同，但都要求至少复苏2 h。在增菌阶段，EP10.0采用了0.1、0.01、0.001、0.000 1 g(或mL)等4个供试品接种浓度，分别接种至MEEB培养基中，使该方法可检测的耐胆盐革兰阴性菌数量达到 $1 \times 10^4$  CFU/g(或CFU/mL)。与其他药典采用0.1、0.01、0.001 g(或mL)3个供试品接种浓度的方法相比，EP10.0方法的检测上限提高了1个数量级。各药典在选择性分离所用方法一致，均采用VRBGA培养基识别可疑菌落，但培养温度和培养时间略有差别。

### 2.2 大肠埃希菌

EP10.0和JP17分别规定了大肠埃希菌的定性和定量检验方法，USP43和ChP2020则仅规定了定性检验方法。在定性检验方法中，各药典检测原理一致，均将供试液经TSB培养基增菌后，接种至麦康凯肉汤培养基中，再经选择性培养基分离。其中，USP43使用麦康凯琼脂培养基分离培养18~24 h，并可选用EMB培养基进

表2 USP43、EP10.0、JP17和ChP2020中关于中药饮片控制菌检查方法的比较

Tab 2 Comparison of specified microorganisms of TCM decoction pieces among USP43, EP10.0, JP17 and ChP2020

控制菌	步骤	具体要求			
		USP43“2021”和“2022”	EP10.0“2.6.31”	JP17“5.02”	ChP2020“通则1108”
耐胆盐革兰阴性菌	前处理及一次增菌	取相当于1g或1mL供试品的供试液至pH 7.2 PBS或TSB培养基;20~25℃,2~5h	取相当于1g或1mL供试品的供试液至TSB培养基;20~25℃,2~3h	取相当于1g或1mL供试品的供试液至TSB培养基;20~25℃,2~5h	取相当于1g或1mL供试品的供试液至TSB培养基;20~25℃,约2h
	二次增菌	3浓度接种于肠道增菌液体(MEEB)培养基;35~37℃,24~48h	4浓度接种于MEEB培养基;30~35℃,24~48h	3浓度接种于MEEB培养基;35~37℃,18~24h	3浓度接种于MEEB培养基;与EP相同
	分离	紫红胆盐葡萄糖琼脂(VRGBA)培养基;30~35℃,18~24h	与USP43相同	VRGBA培养基;35~37℃,18~24h	与USP43相同
大肠埃希菌	前处理及一次增菌	定性检验:取10g或10mL供试品至TSB培养基;30~35℃,24~48h	定性检验:与USP43相同	定性检验:与USP43相同	定性检验:取相当于1g或1mL供试品的供试液至TSB培养基;30~35℃,18~24h
	二次增菌	麦康凯肉汤培养基;42~44℃,24~48h	与USP43相同	麦康凯肉汤培养基;(44±0.5)℃,24~48h	与USP43相同
	分离	麦康凯琼脂培养基;30~35℃,18~24h	麦康凯琼脂培养基;30~35℃,18~72h	与EP10.0相同;增加显色琼脂培养基	与EP10.0相同
	鉴定	伊红美蓝琼脂(EMB)培养基;30~35℃,24~48h	适宜的鉴定方法	与EP10.0相同	与EP10.0相同
	定量检验	与USP43相同	定量检验:3浓度接种于TSB培养基;30~35℃,18~24h	定量检验:与EP10.0相同	定量检验:与EP10.0相同
沙门菌	前处理及一次增菌	取10g或10mL供试品至TSB培养基;30~35℃,18~24h	25g或25mL供试品至225mL缓冲蛋白胨水溶液;30~35℃,18~24h	与USP43相同	与USP43相同
	二次增菌	沙门菌液体(RV)培养基;30~35℃,18~24h	与USP43相同	RV培养基;(42±0.5)℃,18~24h	与USP43相同
	分离	亮绿琼脂(BGA)、木糖赖氨酸脱氧胆酸盐琼脂(XLD)或Hektoen Enteric 琼脂(HE)培养基(任选1个或多个);30~35℃,24~48h	XLD培养基;30~35℃,18~48h	与EP10.0相同;可选用显色琼脂培养基	与EP10.0相同
	鉴定	三糖铁试验	适宜的方法	与EP10.0相同	三糖铁试验或其他适宜的方法
金黄色葡萄球菌	前处理及一次增菌	取10g或10mL供试品至TSB培养基;30~35℃,18~24h		取相当于1g或1mL供试品的供试液至TSB培养基;30~35℃,24~48h,再转接至含7.5%氯化钠的TSB培养基;30~35℃,24~48h	
	分离	Vogel-Johnson 琼脂(VJ)、Baird-Parker 琼脂(BP)或甘露醇氯化钠琼脂(MS)培养基(任选1个或多个);30~35℃,24~48h	未规定	与USP43相同	未规定
	鉴定	血浆凝固酶试验		适宜的鉴定方法	
梭菌	前处理	取样2份,单份80℃加热10min			
	增菌	梭菌增菌肉汤培养基;厌氧35~37℃,48h	未规定	未规定	未规定
	分离	哥伦比亚琼脂培养基;厌氧35~37℃,48h			
	鉴定	氧气利用试验、氧化酶试验			

行大肠埃希菌鉴定;其余3部药典则要求选用麦康凯琼脂培养基分离培养18~72h,并采用适宜的鉴定方法确定目标菌。JP17可额外选用大肠埃希菌显色琼脂培养基替代麦康凯琼脂培养基对样品进行分离培养。在定量检验方法中,EP10.0和JP17均采用0.1、0.01、0.001g(或mL)等3个供试品接种浓度的MPN法检查样品中大肠埃希菌,为控制菌检查提供了更多的方法选择。

### 2.3 沙门菌

在取样量上,除EP10.0要求取样25g(或25mL)至225mL缓冲蛋白胨水溶液中培养外,其余各药典均规定取10g(或10mL)供试品加入TSB培养基中。在选择性增菌培养阶段,USP43、EP10.0和ChP2020均采用RV培养基在30~35℃条件下培养,而JP17则将培养温度升高至(42±0.5)℃,以增加选择性。在分离阶段,USP43方法可在BGA、XLD或HE培养基中任选1个或多个;EP10.0和ChP2020则仅规定使用XLD培养基,JP17还可选用沙门菌显色琼脂培养基。在可疑微生物鉴定上,

USP43通过三糖铁试验筛选目标菌;EP10.0和JP17则采用适宜的方法判断;ChP2020整合了上述两种鉴别方式,更为灵活、合理。

### 2.4 其他控制菌

JP17和USP43均规定了金黄色葡萄球菌的检验方法,而EP10.0和ChP2020则未规定该项目。JP17规定供试品经TSB培养基培养后,需转接至含7.5%氯化钠的TSB培养基再培养,以抑制背景菌;USP43则仅采用TSB培养基单次增菌。在选择性培养基分离时,JP17和USP43除使用MS培养基外,还增加了VJ培养基和BP培养基。在可疑菌落鉴定时,USP43选用血浆凝固酶试验,而JP17则可采用适宜的方法鉴定。此外,USP43还提供了梭菌检测方法,与USP43“62”项下的非无菌产品微生物检查方法相同。

## 3 微生物限度标准

### 3.1 EP10.0

EP10.0“5.1.8”将中药饮片及其提取物分成3类:用

于沸水处理的样品(A)、经其他工艺处理的样品(B)和经其他工艺处理后不能达到B要求的样品(C)<sup>[10]</sup>。对于A类样品, TAMC计数的限度标准为 $1 \times 10^7$  CFU/g(或CFU/mL), TYMC计数为 $1 \times 10^5$  CFU/g(或CFU/mL);同时,在此基础上分别设定了最大可接受计数结果,以5倍因子表示。产品计数项目最严格的标准为B类产品,其TAMC计数的限度标准为 $1 \times 10^4$  CFU/g(或CFU/mL), TYMC计数为 $1 \times 10^3$  CFU/g(或CFU/mL)。除A类样品无需检查耐胆盐革兰阴性菌外, B类和C类样品均要检查TAMC、TYMC计数和耐胆盐革兰阴性菌、大肠埃希菌和沙门菌<sup>[10]</sup>, 详见表3。

### 3.2 JP17

JP17“G4”将中药饮片及其提取物分成两类:经沸水处理的样品(I类)和无需经过提取工艺直接使用的样品(II类)<sup>[11]</sup>。比较而言, JP17中I类产品相当于EP10.0中A类产品, JP17的II类与EP10.0中的C类相近, 但JP17中未规定EP10.0中B类产品的限度标准, 详见表3。

### 3.3 USP43

相比于EP10.0和JP17的饮片分类, USP43在非无菌营养和膳食补充剂的微生物限度标准“2023”中对含有中药(植物药)的产品进行了较为详细的分类, 共有干燥或经磨粉植物、经磨粉植物提取物等7个类别, 详见表4。其中, 干燥或经磨粉植物样品的要求为TAMC计数 $\leq 1 \times 10^5$  CFU/g(或CFU/mL), TYMC计数 $\leq 1 \times 10^3$  CFU/g(或CFU/mL), 且每10g不得检出大肠埃希菌和沙门菌, 该要求高于EP10.0和JP17对相同分类产品的要求。

### 3.4 ChP2020

ChP2020“通则1108”在2015年版基础上, 修改了直

接口服和泡服中药饮片的微生物限度标准, 增加了TAMC、TYMC计数和大肠埃希菌的规定, 除TYMC计数要求为 $1 \times 10^3$  CFU/g外, 其余与EP10.0的C类样品的微生物限度标准(见表3)相同。但ChP2020仍未对中药提取物的控制菌检查设立统一的限度标准。可见, ChP2020对中药饮片微生物限度的要求, 无论是需要控制微生物的中药分类还是微生物限量标准, 都不及其余3部药典完善。

## 4 讨论

2015版《中国药典》中已收录了部分中药饮片相关微生物的限度标准, 在引导中药生产企业重视微生物污染、规范中药饮片加工过程等方面具有积极作用<sup>[15]</sup>。但我国中药饮片整体生产水平和技术条件还远不及发达国家, 产品仍普遍存在微生物污染的现象, 并可能存在条件致病菌<sup>[16-18]</sup>。虽然中药饮片在使用前大多需经煎煮等工艺处理, 但在用药过程中仍存在潜在风险, 其残留的致病微生物仍可能对患者造成危害<sup>[3-4, 8, 17-19]</sup>。目前, ChP2020虽已对“中药提取物及中药饮片的微生物限度标准”进行了修订, 但相较于USP43、EP10.0和JP17, ChP2020在样品分类、检验项目和限度标准等方面的规定还有待进一步完善。

中药饮片是初级加工产物, 也是一类特殊的药品, 其检查方法的适用性是标准制定过程中的重要环节<sup>[14]</sup>。中药饮片微生物本底污染量高, 对控制菌的检查有较大干扰, 存在漏检风险<sup>[17]</sup>。不同检查方法的增菌和分离效果存在较大差异, 以JP17中金黄色葡萄球菌检查为例, 使用含7.5%氯化钠的TSB培养基增菌培养可有利于抑制样品中背景微生物的生长、提高目标菌检出

表3 EP10.0和JP17中中药饮片及其提取物的微生物限度标准

Tab 3 Microbial limit criteria of TCM decoction piece and its extract in EP10.0 and JP17

项目	EP10.0			JP17	
	A	B	C	I	II
TAMC, CFU/g或CFU/mL	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^4$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^7$	$1 \times 10^5$
TYMC, CFU/g或CFU/mL	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^3$	$1 \times 10^4$	$1 \times 10^5$	$1 \times 10^4$
耐胆盐革兰阴性菌, CFU/g或CFU/mL	未作规定	$1 \times 10^2$	$1 \times 10^4$	未作规定	$1 \times 10^4$
大肠埃希菌	$1 \times 10^3$ CFU/g	不得检出(1g或1mL)	不得检出(1g或1mL)	$1 \times 10^3$ CFU/g	不得检出(1g或1mL)
沙门菌	不得检出(25g或25mL)	不得检出(25g或25mL)	不得检出(25g或25mL)	不得检出(10g或10mL)	不得检出(10g或10mL)

表4 USP43中非无菌营养和膳食补充剂的微生物限度标准

Tab 4 Microbial limit criteria of nonsterile nutritional and dietary supplements in USP43

分类	微生物限量				
	TAMC, CFU/g或CFU/mL	TYMC, CFU/g或CFU/mL	耐胆盐革兰阴性菌, CFU/g或CFU/mL	大肠埃希菌, 10g或10mL	沙门菌, 10g或10mL
干燥或经磨粉植物	$\leq 1 \times 10^5$	$\leq 1 \times 10^3$	$\leq 1 \times 10^3$	不得检出	不得检出
经磨粉植物提取物	$\leq 1 \times 10^4$	$\leq 1 \times 10^3$	未规定	不得检出	不得检出
酊剂	$\leq 1 \times 10^4$	$\leq 1 \times 10^3$	未规定	未规定	未规定
流浸膏剂	$\leq 1 \times 10^4$	$\leq 1 \times 10^3$	未规定	未规定	未规定
炮制/煎煮	$\leq 1 \times 10^3$	$\leq 1 \times 10^3$	未规定	未规定	未规定
含植物的营养补充剂	$\leq 1 \times 10^4$	$\leq 1 \times 10^3$	未规定	不得检出	不得检出
使用前用沸水处理的植物	$\leq 1 \times 10^4$	$\leq 1 \times 10^4$	$\leq 1 \times 10^3$	不得检出	不得检出

率。USP43和JP17还增加了多种显色培养基的使用,也是有效区分目标菌的方法。此外,4部药典均允许使用微生物检验替代方法,如电化学方法、气体检查法、化学发光法等,而其中,基于分子生物学的检测技术已在医学检验、食品检验等领域体现出高灵敏度、高特异度和快速检验的优点,可以在中药饮片的微生物检查中发挥积极作用,提高饮片控制菌检出率<sup>[19-20]</sup>。

在限度标准上,USP43对中药的分类最为细致,对中药饮片产品的微生物限度标准要求也较为严格。虽然,USP43并未明确不可接受微生物的种类,但其要求生产企业需主动评估产品中可能存在的不可接受微生物,尤其应控制可能对产品造成不良影响、导致安全性危害的微生物<sup>[12]</sup>。这种风险评估和风险管理理念值得我国借鉴和参考。

综上所述,本研究对4部药典的中药饮片微生物计数法、控制菌检查法和微生物相关限度标准进行了比较分析,根据我国中药饮片微生物污染和控制现状,有必要进一步完善药典对中药相关产品的微生物检验和限度标准,持续收集和整理基础性微生物负载数据,合理指导中药生产企业加强微生物污染控制和管理,最终保障中药产品的安全。建议根据我国中药饮片微生物污染和控制现状,逐步完善药典对中药相关产品的微生物检验方法和限度标准,合理细化相应产品的微生物限度水平。

## 参考文献

[1] CZECH E, KNEIFEL W, KOPP B. Microbiological status of commercially available medicinal herbal drugs—a screening study[J]. *Planta Medica*, 2001, 67(3): 263–269.

[2] ENAYATIFARD R, ASGARIRAD H, SANI BK. Microbial quality of some herbal solid dosage forms[J]. *African J Biotechnol*, 2010, 9(11): 1701–1705.

[3] 范一灵, 李琼琼, 房蕊, 等. 上海地区10种中药饮片微生物污染情况研究[J]. *中草药*, 2015, 46(13): 1908–1913.

[4] 乐巍, 丁安伟, 邱蓉丽. 中药材微生物污染途径及控制方法研究概况[J]. *江苏中医药*, 2010, 42(2): 80–81.

[5] 严丹, 袁星, 解达帅, 等. 中药饮片灭菌的研究现状与思考[J]. *中草药*, 2016, 47(8): 1425–1429.

[6] 段金连, 李月, 张路梅, 等. 中药注射剂中药材的微生物污

染[J]. *云南中医学院学报*, 2019, 42(4): 1–8.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[S]. 2015年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.

[8] 刘鹏, 许华玉, 特玉香, 等. 中药饮片微生物限度的考察与思考[J]. *中国中药杂志*, 2002, 27(8): 628–629.

[9] 贾谦. 中药现代化国际化的反思[J]. *中国中医药信息杂志*, 2003, 10(6): 1–4.

[10] European Pharmacopoeia Commission. *European Pharmacopoeia*[S]. 10.0 edition. Strasbourg. European Directorate for Quality Medicines, 2019: 68–97.

[11] Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan. *The Japanese Pharmacopoeia*[S]. 17th edition. Tokyo: the Ministry of Health, Labor and Welfare, 2016: 138–147.

[12] U.S. *Pharmacopoeial Convention*. *USP 43-NF38*[S/OL]. (2019-10-04)[2020-06-29]. <https://www.uspnf.com/notices/usp-nf-final-print-edition>.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 四部[S]. 2020年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 171–177.

[14] 彭爱娜, 黄江红, 岳朝霞. 探讨提升中药材, 中药饮片检验质量的有效措施[J]. *内蒙古中医药*, 2016, 35(11): 108–117.

[15] 王阶, 乔夕瑶, 林飞, 等. 中药饮片发展现状及质量管理中存在的问题与分析[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(22): 4475–4478.

[16] 邓彦, 王娅珂, 韩晓宇, 等. 不同品种根类中药饮片耐胆盐革兰阴性菌污染研究[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(21): 4135–4141.

[17] 李琼琼, 范一灵, 宋明辉, 等. 基于高通量测序的6类中药饮片污染微生物群落特征分析[J]. *药物分析杂志*, 2019, 39(11): 1945–1953.

[18] 刘鹏, 战宏利, 严倩倩, 等. 中成药口服给药制剂及其原料药微生物污染相关性分析[J]. *药物分析杂志*, 2014, 34(6): 1068–1072.

[19] 绳金房, 杨晓莉, 李辉. 陕西省12种中药饮片微生物污染调查及风险评估[J]. *西北药学杂志*, 2016, 31(6): 608–612.

[20] 甘永琦, 农浚, 零文超, 等. 广西等地区9种中药饮片微生物污染状况分析[J]. *中国药师*, 2018, 21(5): 170–175.

(收稿日期: 2020-06-29 修回日期: 2020-10-15)

(编辑: 罗 瑞)

《中国药房》杂志——中文核心期刊, 欢迎投稿、订阅