

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2018.24.002

国产牛磺酸滴眼液中抑菌剂使用状况分析*

肖 璜,戴 莹,杨美琴,马仕洪[△]

(中国食品药品检定研究院,北京 100050)

摘要:目的 为含抑菌剂滴眼液品种的处方筛选提供指导。方法 参照2010年版《中国药典(一部)》中相关方法,检测国产非抗生素类滴眼液中抑菌剂的组成及含量和抑菌效力,评价其是否满足要求。结果 大部分产品抑菌剂含量达标示量的80%~120%,仅含苯扎溴铵的产品抑菌效力达到标准。结论 抑菌剂含量检测标准需进一步提高;老旧处方产品需进一步解决抑菌效力问题;建议新品研发考虑单剂量产品,降低抑菌剂依赖。

关键词:牛磺酸滴眼液;国产;抑菌剂;含量测定;抑菌效力

中图分类号:R927.1;R988.1

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2018)24-0005-04

Analysis of Bacteriostatic Agents Used in Domestic Taurine Eye Drops

Xiao Huang, Dai Hui, Yang Meiqin, Ma Shihong

(National Institutes for Food and Drug Control, Beijing, China 100050)

Abstract: Objective To provide guidances for prescription screening of eye drops containing bacteriostatic agents. **Methods** Referring to the relevant methods in *Chinese Pharmacopoeia* (2010 edition, Volum I), the composition, content and bacteriostatic efficacy of bacteriostatic agents in the domestic non-antibiotic eye drops were determined to evaluate whether they met the requirements. **Results** The bacteriostatic agent content of most products reached 80% - 120% of the labeled amount, the bacteriostatic efficacy of products containing only benzalkonium bromide reached the standard requirement. **Conclusion** The detection standard of bacteriostatic content needs to be further improved, the antimicrobial efficacy of old prescription products needs to be further solved. It is suggested that single dose products should be considered in the research and development of new products to reduce the dependence of bacteriostatic agents.

Key words: Taurine Eye Drops; domestic; bacteriostatic agents; content determination; bacteriostatic efficacy

根据给药频次,滴眼液可分为单剂量制剂和多剂量制剂,国内常用滴眼液以多剂量制剂为主,为保证其在连续使用过程中不发生微生物污染,需添加适宜的抑菌剂。滴眼液中所使用的抑菌剂种类和添加量对产品的质量与临床安全性有直接影响。本研究中通过对国内13家企业的牛磺酸滴眼液^[1-2]中抑菌剂的种类和含量进行分析,结合抑菌效力,探讨其抑菌剂使用的必要性和合理性,分析国产滴眼液中抑菌剂的应用现状,为提高国产滴眼液制剂质量和加强监管提供有效的技术支持。

1 材料与方法

1.1 试剂耗材

对照品:苯扎溴铵(Sigma-Aldrich公司);羟苯甲酯、羟苯乙酯、羟苯丙酯(中国食品药品检定研究院)。

样品:牛磺酸滴眼液,来自13家企业的75批样品,均为2015年全国评价性抽验样品。

色谱柱:Agilent Zorbax Eclipse XBD-C₁₈柱(序列号USNH033839,250 mm×4.6 mm,5 μm)。

测试菌株:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*) CMCC(B)26003、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aerugi-*

nosa)CMCC(B)10104、大肠埃希菌(*Escherichia coli*)CMCC(B)44102、白色念珠菌(*Candida albicans*)CMCC(F)98001、黑曲霉(*Aspergillus niger*)CMCC(F)98003(以下简称金葡菌、铜绿菌、大肠菌、白念菌、黑曲霉,中国食品药品检定研究院医学菌种保藏中心,均选第3代菌种)。

培养基:沙氏葡萄糖琼脂(SDA)无菌平皿培养基,胰酪大豆胨琼脂(TSA)无菌平皿培养基(上海诺狄生物科技有限公司)。

1.2 分析方法

抑菌剂含量按2010年版《中国药典·第二增补版》中收录的阿昔洛韦滴眼液中“羟苯乙酯、苯扎溴铵与硫柳汞”项下方法测定;抑菌剂效力按2010年版《中国药典(二部)》附录XIX N“抑菌剂效力检查法指导原则”要求,测定13家企业产品是否满足药典标准。控制标准见表1。

2 结果

2.1 处方分析

13家企业的样品共有14个处方,其中有1个因单剂量品种未添加抑菌剂(7.14%),有2个使用季铵盐抑菌剂(14.29%),其余均使用尼泊金酯类抑菌剂

*基金项目:国家科技重大专项课题[2015ZX09303001002001]。

第一作者:肖璜,女,硕士研究生,助理研究员,研究方向为药品微生物检验和标准,(电子信箱)xiaohuang@nifdc.org.cn。

[△]通信作者:马仕洪,男,硕士研究生,副研究员,研究方向为药品质量分析与质量评价,(电话)010-67095990。

表1 眼用制剂抑菌效力评价标准

时间	细菌	真菌
7 d	与初始值(0时)相比,菌数的对数值(lg cfu) 减少不少于1.0	
14 d	与初始值(0时)相比,菌数的对数值(lg cfu) 减少不少于3.0	与初始值(0时)相比,菌数 均不增加
28 d	14~28 d 菌数不增加	

注:表中“不增加”是指相对于前一个测定时间点,试验菌增加数量的对数值(lg cfu)不超过0.5。

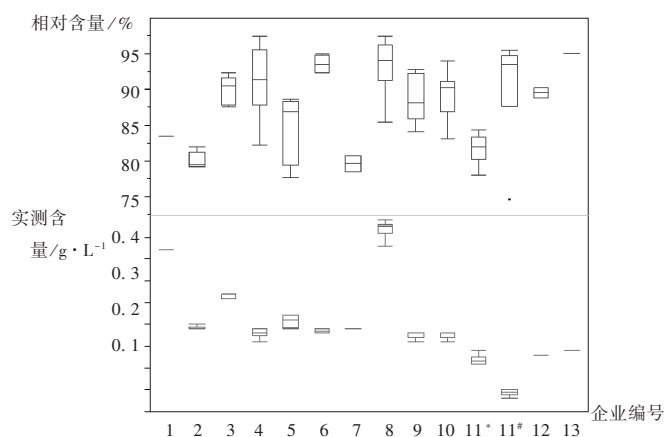
(78.57%)。详见表2。可见,国产牛磺酸滴眼液中抑菌剂使用较单一,主要使用尼泊金酯类和季铵盐类抑菌剂,且处方质量浓度差别不大。

表2 国产牛磺酸滴眼液中抑菌剂处方情况

序号	分类	抑菌剂名称	质量浓度(g/L)	企业编号
1	尼泊金酯类	尼泊金乙酯	0.25 0.3 0.35 0.5	04,06,09,10 02,05,07 03 01,08
		尼泊金甲酯&丙酯	0.2 & 0.1	11
2	季铵盐类	苯扎溴铵	0.2	12,13
3	其他	未添加		11

2.2 抑菌剂含量分析

按照检测方法,对所有含抑菌剂的产品进行含量测定,结果见图1。5家企业产品不足5批,不利于综合分析。箱式分布图仅代表本次试验测定数据。由图1可知,部分企业(编号为02,05,07,11)部分批次的样品中抑菌剂含量低于80%。



注:11*及11#均指11号企业,其所用抑菌剂分别为尼泊金甲酯和尼泊金丙酯。

图1 牛磺酸滴眼液中抑菌剂实测含量及相对含量

2.3 抑菌效力分析

不同菌株供试液在不同计数法下的回收率见表3。其中牛磺酸滴眼液原液经直接接种法后回收率不足70%。可见,原液具有一定的抑菌活性,用直接接种法无

法保证足够的回收率,需要薄膜过滤法去除抑菌活力。为了获得更真实的微生物数据及便于操作,设定方法如下:在供试品原液级计数时,取供试液1 mL,溶解于100 mL 0.9% 无菌氯化钠注射液中,全部通过薄膜过滤器,滤干后,贴于相应的琼脂培养基表面,倒置培养后计数。每家企业的产品进行3次评价,取均值代表产品的抑菌效力。结果国产牛磺酸滴眼液各品种中,苯扎溴铵类抑菌剂的抑菌效力更优,符合2010年版《中国药典(一部)》对抑菌效力的相关要求。而应用较多的尼泊金酯类抑菌剂的抑菌效力未能达到药典要求。主要表现在细菌组,尤其是大肠埃希菌。详见图2。

表3 计数方法考察结果

菌株	菌液菌数 (cfu)	供试液 稀释级	薄膜过滤法		直接接种法	
			菌数(cfu)	回收率(%)	菌数(cfu)	回收率(%)
金葡菌	86	原液	90	100	30	35
		10^{-1}	85	99	78	91
		10^{-2}	84	98	90	100
大肠菌	83	原液	88	100	42	51
		10^{-1}	82	99	82	99
		10^{-2}	80	96	84	100
铜绿菌	79	原液	80	100	48	61
		10^{-1}	78	98	82	100
		10^{-2}	79	100	78	99
白念菌	84	原液	80	95	31	37
		10^{-1}	86	100	80	95
		10^{-2}	82	98	86	100
黑曲霉	72	原液	70	97	34	47
		10^{-1}	73	100	69	96
		10^{-2}	74	100	76	100

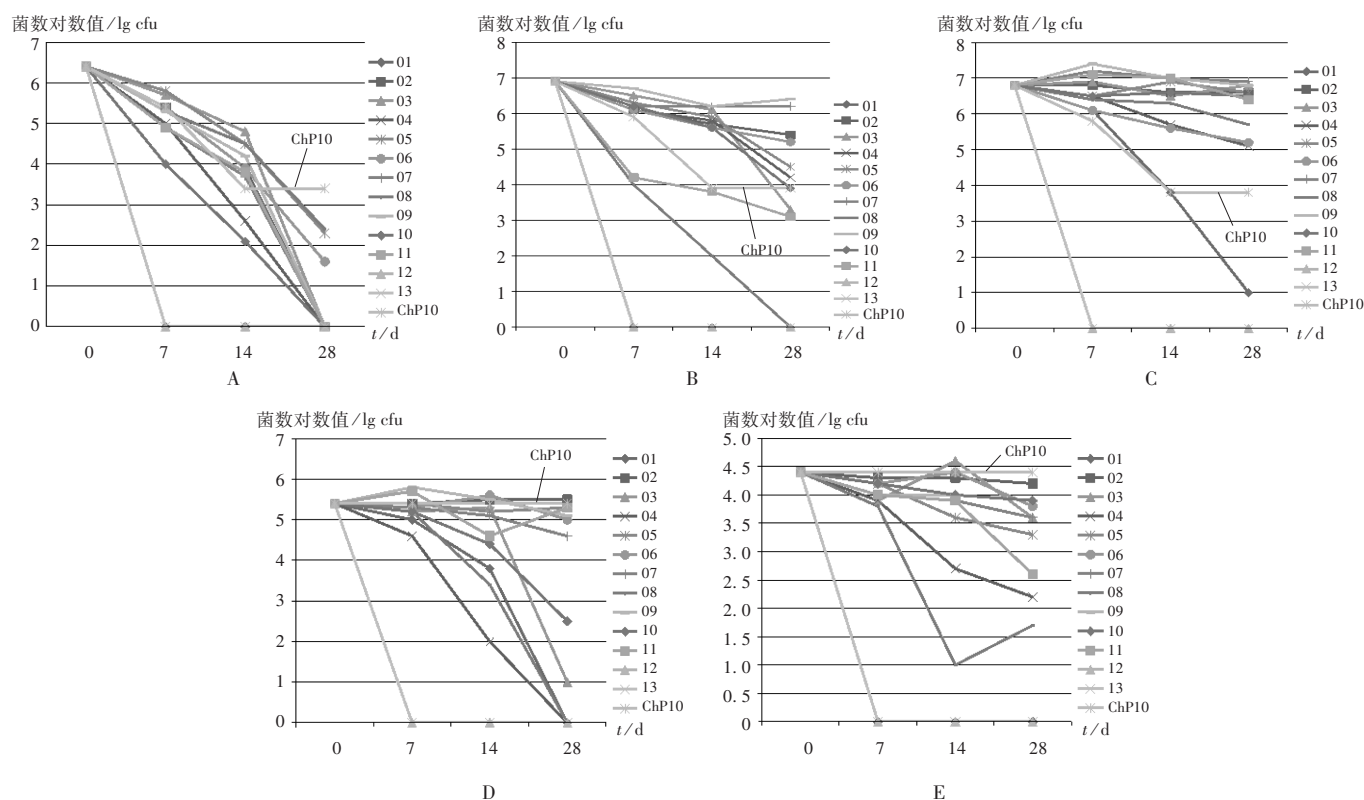
3 讨论

3.1 抑菌剂含量

2010年版《中国药典》在牛磺酸滴眼液品种项下并未收载抑菌剂含量测定方法。本试验中采用了阿昔洛韦滴眼液品种项下方法,因其分离类别多,基本能用于检验添加类别不同的情况,且为2015年版《中国药典》收载。在本实验室开展的专项研究中,该方法对尼泊金酯类(甲酯、乙酯和丙酯)、季铵盐类(苯扎溴铵)、汞类(硫柳汞)均能达到良好分离(数据暂未发表)。

抑菌剂含量通常应控制在处方量的80%~120%。在本试验中,02,05,07,11号企业的部分批次产品中抑菌剂含量不足其处方量的80%,排除试验误差问题,通过回溯实验数据分析,可能存在以下问题:部分企业含量分布情况不一,制剂稳定性差(05企业和11企业);部分企业低限投料(02企业和07企业,不同来源同一批次产品在80%上下浮动)。

2010年版《中国药典》收录了10个滴眼液品种的



注:01-13 为厂家代号;ChP10 为 2010 年版《中国药典》中的标准要求

A. 金葡菌 B. 铜绿菌 C. 大肠菌 D. 白念菌 E. 黑曲霉

图 2 13 个含抑菌剂处方产品抑菌效力测试结果

抑菌剂测定方法,但其测定方法并不统一。目前,在 2015 年版《中国药典》中,收录项下抑菌剂含量测定的滴眼液品种略有增加(11 个),然而并未全面覆盖所有滴眼液品种(共 43 个)。同时,各类抑菌剂在不同滴眼液品种中的测定方法也不相同。在文献收集过程中,发现各药检单位尝试对滴眼液品种项下不同抑菌剂含量测定进行统一,但各单位间并未达成一致^[3-7]。方法不统一可能会造成检测人员操作烦琐,工作量大,而且厂家出厂放行和监管部门裁定认可的标准还存在差异。因此,需要进一步开展标准统一的协调工作,以保证各级产品认可部门最终试验数据的可重复性和认可标准的规范性。2018 年 3 月 28 日,国家药典委员会于官网发布了《滴眼剂中抑菌剂含量测定法(征求意见稿)》,并提请相关单位按所附方法进行自检,于 6 月 30 日前返回检测数据及修订意见。统一规范、灵敏度高、专属性好的滴眼剂中抑菌剂的通用检测方法,将为企业自查提供技术支持,为监管部门有效执法提供有力武器,最终保障临床安全、有效使用滴眼剂^[8]。

3.2 抑菌效力

2010 年版《中国药典(一部)》附录 XVD^[9]中的《抑菌剂效力检查法指导原则》在 2015 年版^[10]中被修订为《抑菌效力检查法》。名称的改变,不仅在于执行力度上

的加强,同时,代表对于产品抑菌能力的认知被进一步推进。抑菌效力已不仅仅被认知为由抑菌剂产生,而是更进一步被认定为由产品整体协同产生。

由表 2、图 1 和图 2 可见,在使用尼泊金酯类抑菌剂的企业产品评价中,抑菌效力和抑菌剂质量浓度并未呈现简单的正相关关系。以尼泊金乙酯处方含量最高(0.5 g/L)的企业为例,虽然 08 企业滴眼液中的抑菌剂实测含量明显高于 01 企业,但 01 企业的滴眼液抑菌效力更优。回溯处方,01 企业在产品中添加了依地酸二钠。据报道,依地酸二钠与抑菌剂联用,可起到更好的抑菌作用^[11]。尼泊金乙酯处方含量最低(0.25 g/L)的 04 企业,其产品抑菌效力在真菌方面表现优异。回溯处方,04 企业添加了较其他企业处方量更大的硼类化合物。硼类化合物对抑菌效力亦有贡献,主要体现在对真菌组的抑制。此结果与同期探索试验结果可以相互佐证^[12]。

在所有含抑菌剂的产品评估中,仅含苯扎溴铵类产品抑菌效力满足 2010 年版《中国药典》要求,而广泛使用的尼泊金酯类产品抑菌效力全线不满足要求。这一现象也应引起业内人士的重视和思考。牛磺酸类品种属于非抗生素类品种,此次试验中发现其抑菌剂使用种类单一,大部分产品不满足标准。相关试验显示,既往抗生素类品种中抑菌剂使用种类和量差异较大^[13-15],说明过