

滴眼液中防腐剂使用的利弊及应对措施

Research on Advantages and Disadvantages of the Preservatives in Eye Drops and the Countermeasures

王明翠 刘洋

Mingcui Wang Yang Liu

吉林省药品检验所
中国·吉林 长春 130033
Jilin Institute for Drug Control,
Changchun, Jilin, 13003, China

【摘要】目的:考察滴眼液中防腐剂的使用情况,探讨使用防腐剂的利弊,不同种类防腐剂对正常机体细胞的伤害,如何最大限度地控制防腐剂的使用,达到既不影响疗效,又不造成伤害的预期效果。方法:通过考察多剂量包装滴眼液开封后室温放置不同时间微生物污染情况,分析滴眼液添加防腐剂的必要性。进一步通过考察不同防腐剂对正常细胞的伤害,正视防腐剂的危害。并通过将防腐剂与保护剂同时作用于细胞进行试验,考察细胞存亡情况。结果:不同防腐剂对细胞有不同程度的伤害,随着时间的增加,伤害程度加重,保护剂有一定的缓解作用。结论:多剂量滴眼液需要添加防腐剂,可以适当添加保护剂,减轻伤害,如果条件允许,推荐开发单剂量包装产品。

【Abstract】Objective: To investigate the use of preservatives in eye drops, to discuss the advantages and disadvantages of using preservatives and how to control the damage of different kinds of preservatives to normal body cells to the maximum extent, so as to achieve the anticipated effect of neither affecting the curative effect nor causing damage. Methods: The microbial contamination of multi-dose packaged eye drops at room temperature for different time after opening was investigated, and the necessity of adding preservatives to eye drops was analyzed. By investigating the damage of different preservatives to normal cells, face up the harm of preservatives. The survival and death of cells were investigated by the simultaneous action of preservatives and protective agents on cells. Result: Different preservatives have different degrees of damage to cells. With the increasing of time, the degree of damage is aggravated, and the protective agents have a certain mitigation effect. Conclusion: Multi-dose eye drops need preservatives, which can be added properly to alleviate injury. If conditions permit, it is recommended to develop single-dose packaging products.

【关键词】滴眼液;防腐剂;污染;伤害;保护剂

【Keywords】eye drops; preservative; contamination; injury; protective agent

【DOI】10.36012/pmr.v2i2.1825

1 引言

随着电子产品的普及,工作、学习压力的增大,多数人出现了眼睛疲劳和损伤的情况,主要症状是眼干、炎症、角膜损伤等。与此同时,市面上出现了形形色色的滴眼液,打着“药到病除”的旗号,让诸多患者不知如何选择。但是,滴眼液都是无害的吗?滴眼液直接与眼部接触,多剂量滴眼液,如果主药本身不具有充分的抗菌活性,在使用过程中就会被微生物污染,导致眼睛引起新的疾病^[1]。但是,长期使用含防腐剂的滴眼液对眼睛也会造成伤害,因此需要探讨如何更有效地控制滴眼液中的微生物的污染,从而减轻防腐剂对眼睛的伤害^[2]。

2 仪器材料

2.1 仪器及耗材

主要包括无菌检验隔离系统、超净工作台、二氧化碳培养箱 Thermo 310、生化培养箱、酶标仪、高压灭菌锅、震荡水浴摇床、XDS-1B 倒置显微镜、微量加样枪。

2.2 材料及试剂

L-929 细胞、WISH 细胞,购自中国药品生物制品检定所 MTT。

RPMI1640 (Invitrogen), lot no1155259,小牛血清(武汉三利)。

滴眼液,长春迪瑞制药有限公司提供,生产批号 120403,规格:5ml/瓶。

三氯叔丁醇,生产批号 20101001,湖南尔康药业。

苯扎溴铵,生产批号 20111101,太仓制药厂。

苯扎溴铵,生产批号 20111025,山东福瑞达制药有限公司。

羟苯乙酯,生产批号 20110702,玻璃酸钠,生产批号 20110702,广州康乔汉普有限责任公司。

3 方法

3.1 使用防腐剂的必要性

操作方法:取滴眼液,开封后,室温放置不同时间,进行无菌和微生物检验。实验发现,开封后,室温放置的滴眼液会被微生物污染,结果如表 1 所示。随着时间的变长,污染的微生物种类和数量逐渐增多,结果如表 2 所示^[3]。

表 1 样品无菌检验结果

样品	时间			
	8h	24h	48h	72h
含防腐剂	-	-	-	-
不含防腐剂	+	+	+	+
稀释液对照	-	-	-	-

注:“-”代表无菌生长,“+”代表有菌生长。

表 2 样品微生物检验结果

样品	检出菌名称	时间			
		8h	24h	48h	72h
含防腐剂	金黄色葡萄球菌	-	-	-	-
	铜绿假单胞菌	-	-	-	-
	白色念珠菌	-	-	-	-
	梭菌	-	-	-	-
不含防腐剂	金黄色葡萄球菌	-	+(3cfu)	+(32cfu)	+(不可计数)
	铜绿假单胞菌	-	+(1cfu)	+(7cfu)	+(22cfu)
	白色念珠菌	-	-	-	+(13cfu)
	梭菌	-	-	-	-
稀释液对照	需氧菌总和	0	0	0	0

注:cfu 为每个平皿上肉眼可观察、可计数的菌落个数。

3.2 防腐剂的危害性考察

3.2.1 方法

根据不同厂家使用的防腐剂,考察各种防腐剂的毒性。培养细胞,进行传代,待细胞状态良好,稀释至适宜浓度,加入 96 孔板,每孔 100ul,做两组,培养 24 小时。然后每孔加入 100ul 防腐剂溶液(根据产品说明书配方配成适宜浓度)。其中一组,继续培养 24 小时,另一组培养 48 小时。培养结束后,进行染色,用酶标仪在 570nm 测定每孔的 OD 值。实验证明,苯扎溴铵对细胞的毒性最大,具体如图 1 至图 8 所示。不同防腐剂作用结果如表 3 所示。

3.2.2 考察苯扎溴铵对 WISH 细胞的毒性

分别取浓度为 0.0025%、0.005%、0.01%的苯扎溴铵溶液,

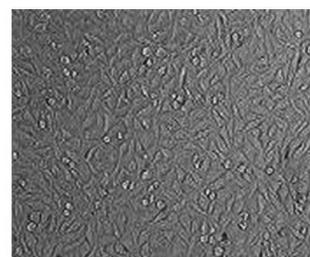


图 1 L929 第一天

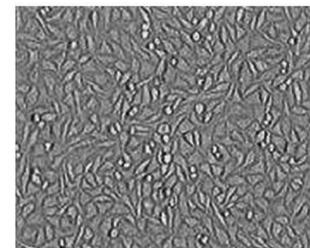


图 2 L929 第二天

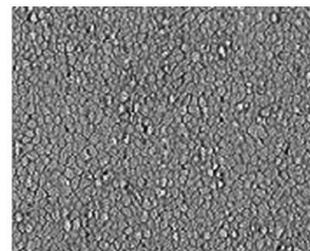


图 3 WISH

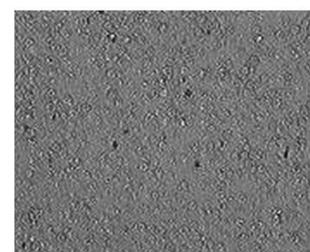


图 4 WISH 加防腐剂

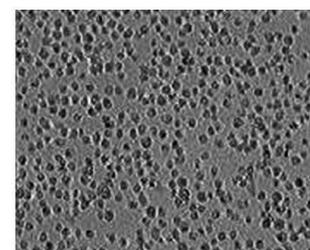


图 5 苯扎溴铵

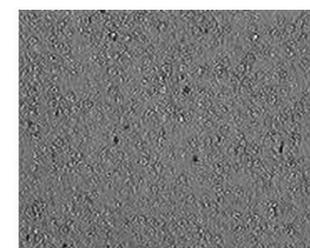


图 6 三氯叔丁醇

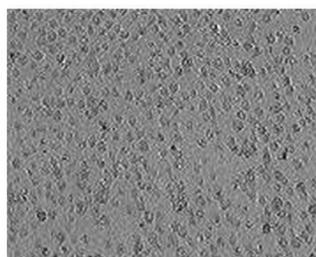


图 7 羟苯乙醇

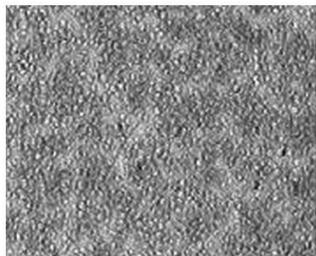


图 8 苯扎氯铵

表 3 不同防腐剂作用结果

时间 OD 值	供试液					
	苯扎 溴铵	三氯叔 丁醇	羟苯 乙醇	苯扎 氯铵	细胞 对照	生理盐水 对照
12h	0.22	0.48	0.32	0.28	0.78	0.81
24h	0.12	0.34	0.24	0.21	0.83	0.85
48h	0.07	0.21	0.12	0.14	0.76	0.77

按照以上步骤进行检验,测定结果如表 4 所示。加入苯扎溴铵不同时间段的 WISH 细胞的变化如图 9 至图 11 所示。

表 4 不同浓度苯扎溴铵作用效果

浓度 OD 值	作用时间		
	12h	24h	48h
0.0025%	0.35	0.23	0.17
0.005%	0.21	0.18	0.11
0.01%	0.12	0.11	0.06
细胞组	0.78	0.84	0.76

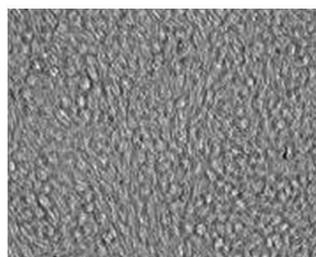


图 9 正常 WISH 细胞

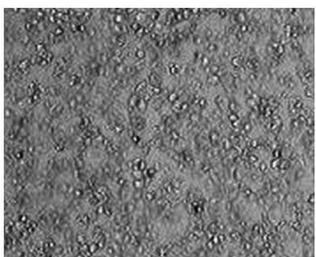


图 10 加苯扎溴铵 24h

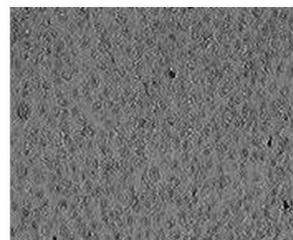


图 11 加苯扎溴铵 48h

实验结果表明,苯扎溴铵浓度越大,作用时间越长,对细胞造成的不可逆伤害越大^[4]。

3.3 应对措施

取浓度为 0.01% 的苯扎溴铵溶液,同时加入不同浓度的玻璃酸钠溶液,同法,进行上述实验,结果如表 5 所示。

表 5 苯扎溴铵与不同浓度玻璃酸钠作用效果

浓度 OD 值	作用时间		
	12h	24h	48h
0.01% 苯扎溴铵	0.14	0.12	0.06
0.01% 苯扎溴铵+1% 玻璃酸钠	0.28	0.25	0.22
0.01% 苯扎溴铵+2% 玻璃酸钠	0.32	0.25	0.26
0.01% 苯扎溴铵+4% 玻璃酸钠	0.58	0.61	0.52
0.01% 苯扎溴铵+8% 玻璃酸钠	0.36	0.34	0.27
细胞组	0.75	0.86	0.81

实验证明,玻璃酸钠可以有效地对抗苯扎溴铵对细胞的伤害,在低浓度范围内,随着玻璃酸钠浓度的增加,保护作用逐渐增大,当浓度过高时,保护作用不明显,推测玻璃酸钠黏性较大,影响细胞的正常代谢,反而不利于增长^[5]。

4 结语

综上所述,为了防止多剂量包装的滴眼液在使用过程中被微生物污染,引起药源性疾病,主药不含抗菌活性的滴眼液应添加一定的防腐剂,同时加入一定量的玻璃酸钠,进行抗氧化作用,保护眼上皮细胞。另外,如果工艺和成本允许,尽量开发单剂量包装滴眼液,更加安全卫生,减少二次污染的概率^[6]。

参考文献

- [1]刘祖国,黄彩虹.正确认识滴眼液中的防腐剂[J].中华眼科杂志,2015,51(9):641-644.
- [2]左六一,解新,赵语,等.环孢素 A 滴眼液的研制[J].重庆医科大学学报,2004(5):696-698.
- [3]宋艳,石勇铨.Graves 眼病治疗药物的有效性和不良反应[J].药品评价,2014(3):26-28.
- [4]崔洁,凌沛学.多剂量包装无防腐剂滴眼液的微生物污染[J].食品与药品,2006(7):52-53.
- [5]林文中,何伟,黎华,等.抗青光眼滴眼液中防腐剂对眼部的影响[J].中国实用眼科杂志,2013(6):664-667.
- [6]严艺菲.滴眼液中含防腐剂长期使用眼睛将受损[J].广西质量监督导报,2014(7):23.