

# 中国药典 2020 年版抑菌效力检查法修订介绍

李辉<sup>1,2</sup>, 周发友<sup>3</sup>, 杨晓莉<sup>2,4</sup>, 马仕洪<sup>3</sup>, 绳金房<sup>2,4\*</sup>(1.陕西盛德泰林生物安全技术检测有限公司, 西安 710065; 2.国家药品监督管理局药品微生物检测技术重点实验室, 西安 710065; 3.中国食品药品检定研究院, 北京 100050; 4.陕西省食品药品监督检验研究院, 西安 710065)

**摘要:** 目的 介绍中国药典(Chinese Pharmacopoeia, ChP)2020 年版抑菌效力检查法修订情况。方法 对比 ChP 2020 年版与 ChP 2015 年版抑菌效力检查法内容的主要差异, 同时分析 ChP、美国药典(USP)、欧洲药典(EP)、英国药典(BP)、日本药局方(JP)等主要药典相关内容的区别与联系。结果 ChP 2020 年版抑菌效力检查法在培养体系、测试菌种等方面都做了修订, 更适合指导药物制剂中抑菌剂的筛选和抑菌体系的建立。结论 ChP 2020 年版抑菌效力检查法进一步获得提高, 成为更加完善的方法, 既可用于指导药品研发阶段抑菌剂的筛选, 也可用于上市药品抑菌剂添加是否科学合理的评价, 有利于保证药品安全有效。

**关键词:** 抑菌效力; 抑菌剂; 抑菌效力检查法; 中国药典 2020 年版; 药典修订; 微生物控制; 水分活度

中图分类号: R951 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)06-0655-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.06.004

引用本文: 李辉, 周发友, 杨晓莉, 等. 中国药典 2020 年版抑菌效力检查法修订介绍[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(6): 655-660.

## Introduction to the Revision of the Antimicrobial Effectiveness Testing of Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition

LI Hui<sup>1,2</sup>, ZHOU Fayou<sup>3</sup>, YANG Xiaoli<sup>2,4</sup>, MA Shihong<sup>3</sup>, SHENG Jinfang<sup>2,4\*</sup>(1.Shaanxi Shengde Tailin Biological Safety Technical Testing Co., Ltd., Xi'an 710065, China; 2.NMPA Key Laboratory for Testing Technology of Pharmaceutical Microbiology, Xi'an 710065, China; 3.National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China; 4.Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 710065, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To introduce the main revision situation about antimicrobial effectiveness testing of the Chinese Pharmacopoeia(ChP) 2020 Edition. **METHODS** Compared antimicrobial effectiveness testing of ChP 2020 Edition to the relevant content of the ChP 2015 Edition, the differences and links between the main pharmacopoeias such as ChP, US Pharmacopoeia(USP), European Pharmacopoeia(EP), British Pharmacopoeia(BP), and Japanese Pharmacopoeia(JP) were analyzed at the same time. **RESULTS** The antimicrobial effectiveness testing of ChP 2020 Edition had been revised in the culture system, test strains, and so on, it was more suitable to guide the screening of antibacterial agents and the establishment of antibacterial systems in the pharmaceutical preparations. **CONCLUSION** The antimicrobial effectiveness testing has been further improved to become a more complete method, which can be used to guide the screening of bacteriostatic agents in the drug development stage, and can also be used for the scientific and reasonable evaluation of the addition of bacteriostatic agents for listed drugs, which is conducive to ensuring drug safety and effective.

**KEYWORDS:** antimicrobial effectiveness; antimicrobial agent; antimicrobial effectiveness testing; Chinese Pharmacopoeia 2020 Edition; pharmacopoeia revision; microbial control; water activity

抑菌效力检查法即评价药物制剂抑菌能力的方法<sup>[1]</sup>, 是当前中国药品微生物控制体系的重要组成部分。中国药典 2020 年版抑菌效力检查法(以下简称“新版药典”)在 2015 年版的基础上<sup>[2-3]</sup>, 借鉴吸收国外药典的技术经验, 结合当前药品质量的实际状况, 形成更加符合中国药品高质量发展要求的检查方法。新版药典抑菌效力检查法对培

养基适用性检查、方法适用性检查、抑菌效力测定用的试验菌及新鲜培养物制备, 抑菌效力测定菌种等内容进一步修订完善。本文旨在介绍新版药典抑菌效力检查法的修订情况, 分析抑菌效力检查法应用中遇到的相关问题, 展望抑菌效力检查法的发展趋势, 有利于新版药典抑菌效力检查法的理解和实施。

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2019SF-062)

作者简介: 李辉, 男, 硕士, 副主任药师 Tel: 15202967585  
(029)62288403 E-mail: shengkangjia@163.com

E-mail: flywithme100@163.com

\*通信作者: 绳金房, 男, 主任药师

Tel:

# 1 抑菌效力检查法概况

## 1.1 抑菌效力检查法的起源

1970年9月1日美国药典(USP)第18版首次收载了抑菌效力检查法,这源自1967年美国制药生产协会生物分会(The Biological Section of the Pharmaceutical Manufacturer's Association)给USP的一个建议,该建议提出增加药品抑菌剂抑菌效力的详细检查方法,随后USP采纳了这一建议并开发形成了抑菌效力检查的推荐方法,当前抑菌效力检查法的诸多要求,包括挑战微生物的种类、菌株加入方式等内容均来自此建议,1990年的USP第22版中抑菌效力检查法转变为强制标准<sup>[4]</sup>。USP抑菌效力检查法为在样品中分别接种5种试验菌制备成 $10^6$  cfu·mL<sup>-1</sup>的菌悬液与样品的供试液,培养,在不同的时间间隔取样计数,分别计算各试验菌减少的lg值,并与标准要求比较,判断药品抑菌效力是否符合标准要求<sup>[5]</sup>。

## 1.2 抑菌效力检查法的发展

英国药典(BP)1973年版已有一些关于抑菌剂的简单要求,1980年版明确了抑菌剂的检查要求,欧洲药典(EP) 2.0(1980年版)草案中已包括了抑菌效力检查法<sup>[6]</sup>,目前,BP与EP抑菌效力检查法内容一致<sup>[7-8]</sup>,均为非强制标准,与USP相关内容在检查方法、判定标准方面存在差异,日本药局方(JP)参考USP的相关内容开发了抑菌效力检查法,但在产品分类等方面与USP不同<sup>[9-10]</sup>。

关于抑菌效力检查法标准的国际协调,USP与EP在20世纪末,曾就抑菌效力检查法计划协调,然而在抑菌效力判定标准方面分歧较大,最终未能协调一致,协调停止<sup>[4]</sup>。近年来USP、BP、EP的抑菌效力检查法内容稳定,未进行相关修订<sup>[5,11-12]</sup>。

中国药典2010年版首次收载抑菌剂效力检查法指导原则,2015年版转化为通则。该方法也由推荐方法转变为法定方法。中国药典2020年版抑菌效力检查法主要参考EP 9.0,对试验菌株的适用范围、菌液制备方法、计数方法回收率等问题进行了修订,各国药典抑菌效力检查法主要差异比较见表1。通过比较发现,中国药典2020年版的抑菌效力检查法在计数方法<sup>[13]</sup>、测定时间间隔、判断标准等方面比国际主要药典相关内容更科学、标准更严格、整体理念更严谨。

## 2 抑菌效力检查法的修订情况

中国药典2020年版修订过程中,国家药典委员会分别于2018年11月15日,2019年4月3日,2019年7月1日先后3次发布了抑菌效力检查法征求意见稿,以下简要介绍3次征求意见稿的修订情况。

### 2.1 第1次修订情况

第1次征求意见稿在“用于指导生产企业在研发阶段制剂中抑菌剂种类和浓度的确定”的表述中增加了“种类”的内容。USP要求在滴眼剂说明书上明确标注所用抑菌剂的种类及浓度<sup>[14]</sup>,

表1 各国药典抑菌效力检查法主要内容比较

Tab. 1 Comparison of main content of antimicrobial effectiveness testing of pharmacopoeia of various countries

项目	USP 43	JP 17	EP 10.0/BP 2018	ChP 2020
挑战菌株	大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、巴西曲霉	同USP, 糖浆剂增加鲁氏酵母菌	除大肠埃希菌外同USP, 口服制剂推荐大肠埃希菌, 糖浆剂推荐鲁氏酵母菌	大肠埃希菌、铜绿假单胞菌、金黄色葡萄球菌、白色念珠菌、黑曲霉; 大肠埃希菌和鲁氏酵母菌要求同EP和BP
培养基	胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA)、胰酪大豆胨液体培养基(TSB)、沙氏葡萄糖琼脂培养基(SDA)、沙氏葡萄糖液体培养基(SDB)	同USP	TSA、SDA(未添加抗菌药物)	同USP
分类依据	用药风险, 给药途径, 水分活度	用药风险, 给药途径, 水分活度	用药风险, 给药途径	用药风险, 给药途径
类别	4类	2类, 其中1类再细分4亚类	3类	3类
接种体积	0.5%~1%	0.5%~1%	不超过1%	不超过1%
接种浓度	有差异, 1类产品 and 4类产品不同	有差异, 1D类产品不同	各产品相同	各产品相同
测定时间	7 d, 14 d, 28 d	同USP	6 h, 24 h, 2 d, 7 d, 14 d, 28 d	同EP和BP
判定标准	无A、B标准	无A、B标准	分为A、B标准, 通常应达到A标准, 特殊情况应达到B标准	分为A、B标准, 通常应达到A标准, 特殊情况应达到B标准
结果判断	NI为不增加, 即不超过0.5 lg	同USP	NI为与前一个测定值相比不增加	同USP

注: A标准—应达到的抑菌效力标准; B标准—特殊情况下, 如抑菌剂可能增加不良反应风险应达到的抑菌效力标准。

Note: Standard A—the antibacterial effect standard that should be achieved; standard B—the antibacterial effect standard that should be achieved under special circumstances, such as antibacterial agents may increase the risk of adverse reactions.

中国药典 2015 年版仅对抑菌效力检查方法进行了规定, 对于抑菌剂种类和浓度如何筛选, 未做详细规定, 抑菌剂的选用对药品制剂质量影响深远, 应引起足够的重视<sup>[15]</sup>, 增加该内容对方法的指导作用表述更为严谨; 在“试验菌及新鲜培养物制备”增加了“大肠埃希菌仅用于口服制剂的抑菌效力测定”的规定。这是因为大肠埃希菌常作为口服制剂的控制微生物, 而与注射剂和局部给药制剂之间没有特定的相关性<sup>[6]</sup>。尽管对于非口服制剂, 铜绿假单胞菌对抑菌剂的敏感性可能会低于大肠埃希菌。这一规定要求口服制剂的试验菌增加大肠埃希菌, 相比于中国药典 2015 年版的规定更为合理。对于多剂量包装的口腔黏膜制剂以及用于牙龈、唇及口腔黏膜的外用制剂, 如含漱液等, 是否适用于大肠埃希菌作为挑战微生物需进一步研究, 考虑到给药途径和潜在风险, 此类制剂建议评估大肠埃希菌的应用问题。

培养基是菌液制备和计数结果可靠性的基础, 应进行适用性检查。用于存活微生物恢复的培养基会直接影响抑菌活性的评估, 某些培养基已经被证实, 支持健康微生物的生长繁殖, 而不支持受到亚致死的损伤微生物的生长。此外, 培养基的营养性能、温度、培养时间都会影响微生物细胞的生长繁殖<sup>[16]</sup>。在“培养基适用性的结果判定”部分, 若被检培养基上的菌落平均数不小于对照培养基上菌落平均数的 50%, 此处的回收率判定标准由 70%修订为 50%, 抑菌效力测定部分回收率要求与培养基适用性要求相同<sup>[17]</sup>。菌落计数结果常具有不均匀性, 其对数值呈泊松分布, 一般认为微生物计数同一供试品重复性允差为 2 次测定结果对数值之差不超过 0.3 lg, 重现性允差为 2 次测定结果对数值之差不超过 0.5 lg, 新版药典的允差为 0.3 lg<sup>[18]</sup>, 即计数结果在 $\pm 0.3$  lg 内, 该要求与通则 1105 非无菌产品微生物限度检查: 微生物计数法相关内容保持一致, 该修订考虑到微生物的计数的内在可变性特点, 更为严谨。

## 2.2 第 2 次修订情况

第 2 次征求意见稿删除“抑菌剂有时也称防腐剂”的表述, 防腐剂的称谓多用于食品工业, 在中国药典 2010 年版中用于对抑菌剂的进一步解释说明, 随着抑菌效力检查法的实施, 抑菌剂的称谓逐渐得到规范统一, 因此没有必要对其名称做进一步解释说明。修订“表 1”白色念珠菌与黑曲霉的培养时间, 将菌液制备中黑曲霉洗脱量由

3~5 mL 修订为适量, 抑菌效力菌液制备做同步修订, 黑曲霉孢子悬液可保存在 2~8 °C, 在 1 周修订为 7 d 内使用。细菌在 TSA 上 30~35 °C 培养 18~24 h 以保证细菌处于可培养状态并且处于对数增长期, 死细胞的数量最小化, 以期获得抑菌剂准确的抑菌效力反应。酵母菌在 20~25 °C 条件下培养 48 h 左右, 但是 $\leq 52$  h; 霉菌在 6~7 d 时可观察到丰富的菌苔, 6~10 d 的任何时间均可使用, 具体培养时间要根据实际获得较多孢子的时间而定<sup>[19]</sup>。以上修订的主要目的在于增强方法的稳定性, 减少方法内在的可变性, 提高方法的可操作性。由于规定“大肠埃希菌仅用于口服液体剂”, 因此供试品的具体取样数量做了相应调整<sup>[20]</sup>。

## 2.3 第 3 次修订情况

第 3 次征求意见稿在抑菌效力测试项下, 增加“例如含高浓度糖的口服制剂还应选用鲁氏酵母为试验菌株内容”<sup>[21]</sup>。接合酵母菌属最早由 Barker 在 1901 年描述, 并于 1983 年被划定为一个独立的属, 鲁氏酵母即为接合酵母菌属的酵母菌, 鲁氏酵母具有独特的生理特性, 它能在低 pH 值, 低水分活度, 高渗透压和高盐(NaCl)环境中生长, 并且对弱酸性抑菌剂具有较强的抵抗力<sup>[22-25]</sup>。因而它可引起低水分活度、高含糖量的食品和药品的腐败变质, 是高含糖量产品开发阶段要考虑的重要问题。EP、JP 等推荐含高浓度糖的口服制剂选用鲁氏酵母作为试验菌株之一, 以降低该类药品安全风险。新版药典增加了含高浓度糖的口服制剂选择鲁氏酵母作为挑战微生物的内容, 完善方法使其更为科学合理。中国药典 2020 年版制剂通则 0116 糖浆剂中指出糖浆剂在生产与贮藏期间的含蔗糖量应不低于 45%, 即为含高浓度糖的口服制剂的典型代表。中国药典 2020 年版抑菌效力检查法的主要修订内容见表 2。

## 2.4 修订中收集的主要意见及处理

中国药典 2020 年版抑菌效力检查法修订过程中收集反馈意见 21 条, 主要集中在试验菌株、菌液制备、检查方法、判定标准等方面。试验菌株方面, 建议将黑曲霉修改为巴西曲霉、各产品均使用大肠埃希菌、对含高浓度糖的口服制剂使用鲁氏酵母。黑曲霉名称问题在中国药典 2020 年版 9204 微生物鉴定指导原则中已有说明, 未采纳; 考虑到剂型风险及标准的合理性, 参照 EP 和 BP, 规定口服制剂采用大肠埃希菌, 其他制剂不做要求, 未采纳; 鲁氏酵母菌对高浓度糖具有耐受性,

表 2 中国药典 2015 年版和 2020 年版抑菌效力检查法的主要修订对照表

Tab. 2 Main revision of antimicrobial effectiveness testing of the Chinese Pharmacopoeia 2015 Edition and the 2020 Edition

项目	中国药典 2015 年版	中国药典 2020 年版
名称	有时也称防腐剂	无
菌液制备	白色念珠菌培养 24~48 h; 黑曲霉培养 5~7 d, 洗脱液加入量 3~5 mL	白色念珠菌培养 48 h, 黑曲霉培养 6~10 d, 洗脱液加入量适量
抑菌效力检查法	无	大肠埃希菌仅用于口服制剂的抑菌效力测定
正文表 1 注		
回收率要求	不小于 70%	不小于 50%
特殊规定	无	含高浓度糖的口服制剂还应选用鲁氏酵母作为试验菌
最少接种数量	5 份	4 份
其他	黑曲霉的孢子悬液可保存在 2~8 °C, 在 1 周内使用	黑曲霉的孢子悬液可保存在 2~8 °C, 在 7 d 内使用

如不考虑该试验菌, 可能导致药品的抑菌效力存在潜在风险, 予以采纳。菌液制备方面, 建议将抑菌效力测定中的黑曲霉孢子悬液可保存在 2~8 °C, 在 7 d 内使用修改为在验证过的储存期使用等。抑菌效力检查试验对菌种活性的敏感性要高于方法适用性试验, 为了降低影响, 要求相对严格, 因此该建议未采纳。检查方法方面, 在建立计数方法时可参考 USP 对巴西曲霉的要求, 建议选择每个平板上的菌落数选取 <80 cfu 计数。尽管从准确性角度考虑, 每个平板细菌及酵母菌为 25~250 cfu, 霉菌为 8~80 cfu 较为理想, 然而该要求较严格, 且与当前微生物检测体系的总体不符, 综合考虑暂未采纳。判定标准方面, 采用 EP 标准较为严格, 建议参照 USP 标准判定。为适应制药产业的监管和高质量发展需要, 中国药典 2015 年版、2020 年版的抑菌效力检查法标准要求更为严谨, 且方法体系与 EP 体系较为接近, 使用 A、B 标准有利于指导和进一步保障药品安全有效和质量可控, 该建议未采纳。

### 3 抑菌效力检查法的应用

中国药典 2015 年版抑菌效力检查法实施以来, 利用抑菌效力检查法对药品中抑菌剂的添加状况进行评价研究, 发现依据经验添加抑菌剂情况较为普遍, 部分已上市药品抑菌效力研究不够充分, 主要表现在抑菌剂的种类和浓度选择不合理, 抑菌体系的构建不合适等。近年来药品评价性抽验对多个国产滴眼液中的抑菌剂进行过分析, 发现抑菌剂滥用现象严重, 不仅使用的抑菌

剂种类繁多(如: 苯扎氯铵、苯扎溴铵、尼泊金甲酯、尼泊金乙酯、尼泊金丙酯、硫柳汞、苯乙酸汞等), 且相同抑菌剂在不同处方中的添加量差异也非常大<sup>[1]</sup>。生产企业仅依照经验选择抑菌剂、加入量未进行系统研究等问题突出, 存在某些药品处方中添加抑菌剂量较大, 但实际抑菌效力不佳的问题<sup>[26-27]</sup>, 同时, 还存在所选择的抑菌剂与其所需最佳 pH 不一致等问题。某些具有抗菌活性的药品本身具有足够的抑菌效力, 经研究评估后可不添加抑菌剂, 滥用抑菌剂会造成药品的安全问题。杨美琴等<sup>[28]</sup>分析了 28 个国产氧氟沙星滴眼液处方, 发现有 4 个未使用抑菌剂且抑菌效力满足标准控制要求, 说明此类品种经评估后可不添加抑菌剂, 邹谨霜等<sup>[29]</sup>同样认为应对抗菌药物品种的眼用制剂是否添加抑菌剂进行评估, 刘广桢等<sup>[30]</sup>对苯酚滴耳液抑菌效力测定和评价表明苯酚滴耳液本身已具备充分的抑菌效力, 不需要添加抑菌剂, 也可抑制在贮藏和使用过程中发生微生物污染。

在新药开发、已上市药品变更、已上市药品评价等阶段, 通过抑菌效力检查法研究抑菌效力, 结合理化抑菌剂含量的测定方法, 优化抑菌剂种类和浓度筛选, 是解决抑菌剂使用中存在的问题的有效途径。张文燕等<sup>[31]</sup>分别对新药酒石酸溴莫尼定凝胶、已上市中药半夏糖浆/半夏止咳糖浆的抑菌效力进行评价, 酒石酸溴莫尼定凝胶可达到“A”标准要求, 而 H 厂家生产的半夏糖浆和 S 厂家生产的半夏止咳糖浆的抑菌效力不能达到药典规定下降的 lg 值<sup>[32]</sup>, 钱凌等<sup>[33]</sup>通过抑菌效力检查法考察盐酸卡替洛尔滴眼液中抑菌剂的最适浓度, 确定了苯扎氯铵添加量为 40 μg·mL<sup>-1</sup> 是适宜浓度, 潘雯等<sup>[34]</sup>通过对市售 7 个厂家生产的硫酸软骨素滴眼液的抑菌效力进行研究, 结果发现该产品使用尼泊金酯类抑菌剂的抑菌效力检查结果不合格。此外, 近年来在药品中抑菌剂的含量测定方面, 报道了 HPLC<sup>[14,35-36]</sup>、胶束电动毛细管电泳法<sup>[37]</sup>等方法可同时测定某些药品中的多种抑菌剂, 方法准确高效, 抑菌剂含量测定方法是对抑菌效力检查法评价抑菌体系有效性和合理性的重要补充。

### 4 抑菌效力检查法的发展趋势

如何精准选择抑菌谱广、添加量合理、不良反应少的抑菌剂, 从整体上构建抑菌体系而不是仅仅依赖抑菌剂是抑菌效力检查要考虑的重要问

题, 可利用抑菌效力检查法进行抑菌剂的筛选、优化和评价, 并且结合水分活度等因素优化处方, 开发不含或少含抑菌剂的药品。药品的物理化学属性水分活度是影响微生物生长的关键因素之一, 合理利用水分活度参数将有助于建立和评价药品的抑菌效力。药品的水分活度可用于药品处方筛选及抑菌体系有效性评价<sup>[38-39]</sup>, 过低或过高的 pH, 营养缺乏, 含有某些表面活性剂, 含有抑菌剂以及低水分活度等药品属性, 都将有助于抑制微生物生长繁殖, 因此通过合理组合水分活度、pH、抑菌剂是抑菌体系建立、新药处方开发的重要考虑因素。尽管中国药典 2020 年版抑菌效力检查法已较为完备, 然而, 从可靠性和完整性角度规范检查方法的过程, 吸收新技术新理念的应用, 降低方法可变性风险, 提高准确性依然是方法提高的方向。

此外, 可从包装角度避开多剂量使用药品易受微生物污染的缺陷, 引导开发单剂量包装药品。单剂量包装药品通过降低使用过程中微生物污染的风险而降低对抑菌剂的依赖, 无疑是药品研发的另一方向<sup>[40]</sup>。虽然人们普遍认为单剂量包装对于维持无菌状态是最佳的, 但是却不是最有效和最节约成本的<sup>[41-42]</sup>。因此, 在开发单剂量包装药品以解决抑菌剂的添加问题时, 还应综合考虑成本和方便性的问题。

总之, 利用抑菌效力检查法评价已有的药品处方以提升存量药品质量层次, 对新药处方进行系统研究以提高增量药品创新水平是抑菌效力检查法应用的必然趋势。

## REFERENCES

[1] HU C Q. Current situation and trend in pharmaceutical microbial control[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2015, 50(20): 1747-1751.

[2] 中国药典. 四部[S]. 2020: 176-177.

[3] 中国药典. 四部[S]. 2015: 151-153.

[4] SUTTON S V, PORTER D. Development of the antimicrobial effectiveness test as USP chapter[J]. PDA J Pharm Sci Technol, 2002, 56(6): 300-311.

[5] USP 43-NF 38 Vol IV[S]. 2020: 6449-6452.

[6] SPOONER D F, CROSHAW B. Challenge testing—The laboratory evaluation of the preservation of pharmaceutical preparations[J]. Pharm Weekbl, 1981, 3(1): 245-251.

[7] EP 10.0.Vol I[S]. 2020: 625-627.

[8] BP. Vol V[S]. 2018: V-A519, V-A683.

[9] JP. 17[S]. 2016: 2499.

[10] JP. 14[S]. 2001: 1321.

[11] SUTTON S V, KNAPP J E, PORTER D. Activities of the USP analytical microbiology expert committee during the 2000-2005 revision cycle[J]. PDA J Pharm Sci Technol, 2005, 59(3): 157-176.

[12] SUTTON S V W. Activities of the USP microbiology and sterility assurance expert committee during the 2005-2010 revision cycle[J]. Am Pharmaceut Rev, 2011, 14(5): 12-30.

[13] XIAO H, DAI H, YANG M Q, et al. Analysis and evaluation of bacteriostatic agent application in domestic eye drops[J]. J Pharm Res, 2017, 36(9): 519-522.

[14] ZHAO J D, QIN F, YANG Y, et al. High-throughput determination of preservatives in eye drops and antimicrobial effectiveness assessment[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2017, 52(04): 308-313.

[15] WANG Y H, WANG Z N, QIAN L, et al. Study of antimicrobial effectiveness of pregabalin oral solution and concentration screening of antimicrobial preservative[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2019, 39(3): 545-550.

[16] PHILIP A G. Cosmetic Microbiology[M]. New York: Taylor & Francis Group, 2006: 111

[17] 国家药典委员会. 关于中国药典 2020 年版四部通则增修订内容(第二批)的公示[EB/OL]. 国家药典委员会, 2018[2019-08-30]. <http://www.chp.org.cn/view/ff80808166ed5beb016715f701724399?a=BZFL>

[18] YANG X L, LI H, MA Y Y, et al. Interpretation of the microbiological examination of nonsterile products: microbial enumeration test of Chinese pharmacopoeia 2015 edition[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2016, 36(6): 1101-1107.

[19] MOSER C L, MEYER B K. Comparison of compendial antimicrobial effectiveness tests: A review[J]. AAPS Pharm Sci Tech, 2011, 12(1): 222-226.

[20] 国家药典委员会. 关于中国药典 2020 年版四部通则增修订内容(第九批)的公示[EB/OL]. 国家药典委员会, 2019[2019-08-30]. <http://www.chp.org.cn/view/ff80808169148bfc0169e21a09617fcd?a=BZFL>.

[21] 国家药典委员会. 关于中国药典 2020 年版四部通则增修订内容(第十五批)的公示[EB/OL]. 国家药典委员会, 2019[2019-08-30]. <http://www.chp.org.cn/view/ff8080816a583947016bab9779ae0e9b?a=BZFL>.

[22] WANG H X, HU Z Q, LONG F Y, et al. Combined effect of sugar content and pH on the growth of a wild strain of *Zygosaccharomyces rouxii* and time for spoilage in concentrated apple juice[J]. Food Control, 2016(59): 298-305.

[23] MARVIG C L, KRISTIANSEN R M, NIELSEN D S. Growth/no growth models for *Zygosaccharomyces rouxii* associated with acidic, sweet intermediate moisture food products[J]. Int J Food Microbiol, 2015(192): 51-57.

[24] FRISÓN L N, CHERICATTI C A, ARÍNGOLI E E, et al. Effect of different sanitizers against *Zygosaccharomyces rouxii*[J]. J Food Sci Technol, 2015, 52(7): 4619-4624.

[25] YAGI T. Intracellular levels of glycerol necessary for initiation of growth under salt-stressed conditions in a salt-tolerant yeast, *Zygosaccharomyces rouxii*[J]. FEMS Microbiol Lett, 1988, 49(1): 25-30.

[26] LIU X L, WU Y Y. Determination and evaluation of preservatives quaternary ammonium salt in gatifloxacin eye

- drops[J]. Strait Pharm J(海峡药学), 2017, 29(2): 66-70.
- [27] LIU S, WU J P, CHEN Q, et al. Quality assessment of the domestic gatifloxacin ophthalmic solution[J]. Chin J Antibiot(中国抗菌药物杂志), 2018, 43(3): 313-318.
- [28] YANG M Q, CAO Y, DAI H, et al. Survey on the preservatives used in domestic ofloxacin eye drops[J]. Chin J Antibiot(中国抗菌药物杂志), 2017, 42(6): 516-520.
- [29] ZOU J S, WANG X, JIANG H, et al. Use and administration condition of bacteriostatic agents for ophthalmic preparations in Hubei province[J]. Herald Med(医药导报), 2019, 38(5): 636-641.
- [30] LIU G Z, SHEN Z, REN L H, et al. Determination and evaluation of antimicrobial effectiveness of phenol ear drops[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2016, 33(5): 645-648.
- [31] ZHANG W Y, CAO X Y, GUO F Q. Determination of antibacterial effect of brimonidine tartrate gel[J]. Tianjin Pharmacy(天津药学), 2020, 32(2): 17-22.
- [32] ZHANG W Y, CAO X Y. Determination of antibacterial effect of Banxia Syrup and Banxia Zhike Syrup[J]. Drug Stand China(中国药品标准), 2020, 21(3): 213-217.
- [33] QIAN L, WANG Y H, LI X L, et al. Studies on the optimal bacteriostatic concentration of bacteriostat and the evaluation of bacteriostatic efficacy of carteolol hydrochloride eye drops[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(16): 1977-1981.
- [34] PAN W, CHEN W S. Studies on the antibacterial efficacy of chondroitin sulfate eye drops[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2020, 40(9): 1709-1714.
- [35] YANG Y, GU Y P, LI M, et al. Simultaneous determination of 9 bacteriostats in naphazoline hydrochloride nasal drops by HPLC[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(20): 2552-2556.
- [36] YANG M, XIAO Y, ZHANG Y, et al. Simultaneous determination of 3 bacterial inhibitors in diclofenac sodium eye drops by HPLC[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2019, 36(10): 1236-1239.
- [37] LIAO N Y, YUAN X Y. Simultaneous determination of six preservatives in Maxing Zhike syrup by MEKC-DAD[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2020, 37(3): 321-325.
- [38] YANG X L, LI H, XU H Y, et al. Application prospect of water activity determination in microbial control of drugs[J]. China Pharm(中国药业), 2018, 27(23): 1-4.
- [39] SHENG J F, LI H, MA S H, et al. Application of water activity determination of microbial control in nonsterile pharmaceutical products[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2018, 38(10): 1837-1841.
- [40] XIAO H, DAI H, YANG M Q, et al. Analysis of bacteriostatic agents used in domestic taurine eye drops[J]. China Pharm(中国药业), 2018, 27(24): 5-8.
- [41] NICOLE L VU, NGUYEN K, KUPIEC T C. The essentials of united states pharmacopeia chapter <51> antimicrobial effectiveness testing and its application in pharmaceutical compounding[J]. Int J Pharm Compd, 2014, 18(2): 123-130.
- [42] MEYER B K, NI A, HU B H, et al. Antimicrobial preservative use in parenteral products: Past and present[J]. J Pharm Sci, 2007, 96(12): 3155-3167.

收稿日期: 2020-08-18  
(本文责编: 李艳芳)