含茶树油和卡波姆的创伤敷料无菌检查方法研究

樊兰艳[1]，滕永慧[2]，李雪玲[1]，甘永琦[1]，朱　斌[1*]

（1. 广西壮族自治区药品检验研究院，广西南宁 530021；2. 广西福莱明生物制药有限公司，广西南宁 530031）

摘要：建立了含茶树油创伤敷料的无菌检查方法。用含 0.1 mol/L 氯化钙的无菌 pH 6.8 磷酸盐缓冲液对创伤敷料中的卡波姆进行破胶处理，再用薄膜过滤法去除其抑菌性。将供试液（相当于含创伤敷料 0.5 g）加至 0.9%无菌氯化钠溶液 50 mL 中，用含 0.3%聚山梨酯 80 的 0.9%氯化钠无菌溶液冲洗（每膜冲洗量≥ 300 mL），同时注入含 1%聚山梨酯 80 的培养基。该方法既可以消除卡波姆的干扰，又可以消除样品的抑菌活性，试验组的 6 株试验菌与阳性对照组相比均生长良好，符合 ChP 2020 年版四部通则 1101 的要求，为含抑菌成分和卡波姆的医疗器械的无菌检查提供了借鉴。

关键词：创伤敷料；医疗器械；无菌检查；卡波姆；茶树油

中图分类号：R927.11；R197.39　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255(2025)04-0519-06

引用：樊兰艳，滕永慧，李雪玲，等．含茶树油和卡波姆的创伤敷料无菌检查方法研究［J］．中国医药工业杂志，2025, 56(4): 519-524．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.04.012

Research on Sterility Test Method of Wound Dressing Containing Tea Tree Oil and Carbomer

FAN Lanyan[1], TENG Yonghui[2], LI Xueling[1], GAN Yongqi[1], ZHU Bin[1*]

(*1. Guangxi Institute for Drug Control, Nanning 530021; 2. Guangxi Fulaiming Biopharm Corporation, Nanning 530031*)

ABSTRACT: A sterility test method for wound dressing containing tea tree oil was established. A sterile pH 6.8 phosphate buffer solution containing 0.1 mol/L calcium chloride was used to break the gel of carbomer in wound dressings, and the antibacterial activity of the wound dressings was removed by membrane filtration. Add the test sample (equivalent to 0.5 g of the wound dressing) to 50 mL of sterile 0.9% sodium chloride solution. Rinse with sterile 0.9% sodium chloride solution containing 0.3% polysorbate 80 (rinsing volume per membrane ≥ 300 mL), and inject culture medium containing 1% polysorbate 80. The established method could eliminate both the interference of carbomer and the antibacterial activity of the wound dressing. Six strains of test bacteria in the experimental group grew well compared with the positive control group, meeting the requirements of Part IV (General Rule 1101) of the ChP 2020 edition, which provided a reference for sterile testing of medical devices containing antibacterial ingredients and carbomers.

Key Words: wound dressing; medical device; sterility test; carbomer; tea tree oil

创伤敷料的主要成分为交联聚丙烯酸树脂（卡波姆）、茶树油等，适用于表皮外伤、Ⅰ/Ⅱ度烧烫伤的应急处理、小手术切口等创面感染的修复。根据制法、用途及产品的质量技术要求，应进行无菌检查。本研究考察的创伤敷料中含茶树油和卡波姆。由于茶树油主要含有 4-萜品醇和 1,8-桉树油等成分，对细菌、真菌等有一定的杀灭作用，是一种广谱抗菌性的天然植物精油[1—2]；而卡波姆形成凝胶后，其羟基发生离子化，通过负电荷间的相互排斥作用

收稿日期：2024-11-12

作者简介：樊兰艳（1986—），女，硕士研究生，从事药品、化妆品等微生物学检验研究。

通信作者：朱　斌（1968—），女，硕士研究生，主任药师，从事微生物检验研究。

E-mail：Zhubin1226@sina.com

使分子链弥散分散，呈现出明显的膨胀状态[3]，很难通过无菌检查的薄膜过滤器。因此，该产品的无菌检查方法，既要充分消除茶树油的抑菌性，还需破除卡波姆对薄膜过滤的影响。

资料显示，聚山梨酯80、卵磷脂、甘氨酸等对茶树油的抑菌成分有一定的中和作用[4]；Mn^{2+}、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Ba^{2+}等二价金属离子可与卡波姆凝胶发生络合反应[5—10]，形成絮凝沉淀物，利用该原理可实现破胶，从而顺利通过微孔滤膜。目前大多数研究并未考虑沉淀物对微生物检出的影响，这可能对样品的无菌保证带来一定的风险。

鉴于此，本研究一方面针对卡波姆的凝胶特性进行破胶方法研究，综合考量破胶后的体系对无菌检查的影响；另一方面针对茶树油的抑菌性展开研究，以ChP 2020年版四部通则1101为依据，筛选适合本品的薄膜过滤前处理方法和薄膜过滤条件，建立有效的无菌检查方法，以期为含茶树油和卡波姆等特殊成分产品的无菌检查提供参考。

1　仪器与试药

ISOFLEX型无菌隔离器（瑞典洁定公司）；3-Canister型集菌仪（德国默克密理博公司）；KDGB220型集菌培养器（杭州泰林生物技术设备有限公司）；Ø15 cm快速定性滤纸（杭州特种纸业有限公司）。

创伤敷料（广西福莱明生物制药有限公司，规格为每支3 g，批号210301、210302、210303）；胰酪大豆胨液体培养基（德国默克密理博公司，批号VM899959）；胰酪大豆胨琼脂培养基（批号190815）、沙氏葡萄糖琼脂培养基（批号1086835）、沙氏葡萄糖液体培养基（批号1091025）、pH 7.0氯化钠蛋白胨缓冲液（批号1086984）、0.1%蛋白胨水（批号1074561）均购自广东环凯生物科技有限公司；硫乙醇酸盐流体培养基（北京陆桥技术股份有限公司，批号190724）；氯化钠（分析纯，含量≥99.5%，批号20200306）、磷酸二氢钾（分析纯，含量≥99.5%，批号F20100202）、氢氧化钠（分析纯，含量≥96.0%，批号F20220510）、聚山梨酯80（化学纯，批号20170606）、硫酸锰（分析纯，含量≥99.0%，批号F20020602）均购自国药集团化学试剂有限公司；氯化钙（广州新建精细化工厂，分析纯，含量≥96.0%，批号20160408）；氯化镁（成都市科龙化工试剂厂，分析纯，含量≥98.0%，批号20100821）；硫酸镁（西陇化工股份有限公司，分析纯，批号130824，含量≥99.0%）。

大肠埃希菌[CMCC(B)44102]、金黄色葡萄球菌[CMCC(B)26003]、生孢梭菌[CMCC(B)64941]、枯草芽孢杆菌[CMCC(B)63501]、白念珠菌[CMCC(F)98001]、黑曲霉[CMCC(F)98003]均由中国医学细菌菌种保藏管理中心提供。

2　方法与结果

2.1　菌液制备

按ChP 2020四部无菌检查法（通则1101）中的菌液制备方法，将培养好的菌液用0.9%无菌氯化钠溶液制成每1 mL小于100 cfu的菌悬液，备用。

2.2　培养基的适用性检查

按ChP 2020四部无菌检查法（通则1101）进行培养基的灵敏度和无菌性检查，结果均符合规定。

2.3　无菌检查供试液制备方法

2.3.1　样品破胶金属阳离子的筛选

取创伤敷料样品3 g，加入无菌的pH 6.8磷酸盐缓冲液21 mL，混匀。然后取适量，分别加入无菌的0.1 mol/L硫酸镁、氯化镁、氯化钙、硫酸锰溶液9 mL，制成1∶10供试液。分别取供试液5、10、15 mL，经薄膜过滤。

2.3.2　样品前处理缓冲液的筛选

取创伤敷料样品3 g，分别加入无菌的pH 7.0氯化钠-蛋白胨缓冲液、0.1%蛋白胨水、0.9%无菌氯化钠溶液、pH 6.8磷酸盐缓冲液21 mL，混匀，再加入无菌的0.1 mol/L氯化钙溶液，制备1∶10的供试液，经薄膜过滤。

2.3.3　样品前处理金属离子浓度的筛选

取创伤敷料样品3 g，以无菌的pH 6.8磷酸盐缓冲液21 mL为稀释液，加入无菌的不同浓度（0.01、0.05、0.1 mol/L）氯化钙溶液9 mL，制备1∶10的供试液，经薄膜过滤。

上述供试液制备方法的筛选结果如表1所示。

由表1可知，采用Mg^{2+}和pH 6.8磷酸盐缓冲液的组合对样品进行前处理的破胶效果不佳，不易过滤；Mn^{2+}或Ca^{2+}和pH 6.8磷酸盐缓冲液的组合，对卡波姆的破胶效果较好，所得供试液易于过滤。

表 1 供试液制备方法的筛选结果

Tab.1 Screening Results of Preparation Methods of Test Solution

前处理条件考察	处理方法	结果
金属阳离子筛选	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.1 mol/L 硫酸镁溶液	溶液较浑浊，取 1 ∶ 10 的供试液 5、10、15 mL 薄膜过滤，均易堵膜
	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.1 mol/L 氯化镁溶液	溶液较浑浊，取 1 ∶ 10 的供试液 5、10、15 mL 薄膜过滤，均易堵膜
	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.1 mol/L 氯化钙溶液	溶液澄清，破胶后的絮状物呈分散状，取上清液 5、10、15 mL 薄膜过滤，易过滤
	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.1 mol/L 硫酸锰溶液	溶液较浑浊，取上清液 5、10、15 mL 薄膜过滤可行，但絮状物成团状
稀释液的选择	pH 7.0 无菌氯化钠蛋白胨缓冲液 +0.1 mol/L 无菌氯化钙	不易过滤
	0.1%无菌蛋白胨水 +0.1 mol/L 无菌氯化钙溶液	不易过滤
	0.9%无菌氯化钠溶液 +0.1 mol/L 无菌氯化钙溶液	不易过滤
	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.1 mol/L 无菌氯化钙溶液	易过滤
金属离子浓度的选择	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.01 mol/L 氯化钙溶液	易堵膜
	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.05 mol/L 氯化钙溶液	易堵膜
	pH 6.8 磷酸盐缓冲液 +0.1 mol/L 氯化钙溶液	易过滤

但在试验中观察到，采用 Mn^{2+} 进行破胶处理，溶液中存在较大的团状物，而采用 Ca^{2+} 处理后，形成的絮状物相对较分散，过滤效果较佳。综上所述，以无菌的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液、Ca^{2+} 浓度为 0.1 mol/L 的组合进行样品前处理，破胶效果最佳，故选作稀释液。

2.4 过滤方法选择及上样量的确定

按“**2.3**”项下确定的样品前处理方法制备 1 ∶ 10 的供试液，再按下述 2 种方法进行预试验。

2.4.1 直接过滤法

取供试液（包含上清液和絮状沉淀物）适量（相当于含创伤敷料 0.5 g），经集菌培养器薄膜过滤，以 0.9%无菌氯化钠溶液冲洗，每膜冲洗量设置为 100、200、300、400、500 mL，每次每膜 100 mL，在最后 1 次冲洗液中加入不大于 100 cfu 的金黄色葡萄球菌，过滤后注入培养基并于规定温度培养不超过 5 d，为试验组。阳性对照组：以 0.9%无菌氯化钠溶液代替供试液，同试验组操作；中和剂对照组：以 pH 6.8 PBS 和 0.1 mol/L 氯化钙溶液作为稀释液代替供试液，同试验组操作；阴性对照组：以同中和剂对照组的稀释液代替供试液，不加入菌液，同试验组操作。下述阳性对照组、阴性对照组、中和剂对照组均按此操作。结果如表 2 所示。

结果显示，将供试液 0.5 g 直接过滤，当每膜冲洗量达 500 mL 时，金黄色葡萄球菌仍未生长，提示在 0.5 g 上样量的情况下，冲洗量达到每膜 500 mL 时仍未能消除产品的抑菌活性。中和剂对照组生长良好，因此以 pH 6.8 磷酸盐缓冲液和 0.1 mol/L 氯化钙溶液作为稀释液，对金黄色葡萄球菌检出无影响。

表 2 0.5 g 供试品直接过滤法的结果

Tab.2 Results of Direct Filtration Method of 0.5 g Test Product

组别	冲洗量 /mL	硫乙醇酸盐流体培养基 / 培养天数 (d)				
		1	2	3	4	5
试验组	100	—	—	—	—	—
	200	—	—	—	—	—
	300	—	—	—	—	—
	400	—	—	—	—	—
	500	—	—	—	—	—
阳性对照组	100	+	+	+	+	+
中和剂对照组	100	+	+	+	+	+
阴性对照组	100	—	—	—	—	—

注：“+”代表有菌生长；“—”代表无菌生长。

2.4.2 二次过滤法

分别取供试液适量（相当于含创伤敷料 0.5 g 和 1 g），先经定性滤纸初滤，再用 0.9%无菌氯化钠溶液 100 mL 冲洗滤纸上的沉淀物，分别收集初滤液、二次滤液和沉淀物。将滤纸上的沉淀物连同滤纸置硫乙醇酸盐流体培养基 250、500 mL 中，按直接接种法培养；滤液合并后经集菌培养器薄膜过滤，用 0.9%无菌氯化钠溶液冲洗，分别设置冲洗量为每膜 200、300、500 mL，按薄膜过滤法进行。检测结果如表 3、4 所示。

如表 3 所示，在 2 种取样量情况下，上清液部分经 0.9%无菌氯化钠溶液 300 mL（每膜）冲洗，金黄色葡萄球菌均能生长。如表 4 所示，在取样量 1 g

的情况下，收集的沉淀物接种至硫乙醇酸盐流体培养基 250 或 500 mL 中，在 ChP 2020 年版规定的时间内，金黄色葡萄球菌均未生长，不符合要求；而在取样量 0.5 g 情况下收集的沉淀物，接种于 500 mL 硫乙醇酸盐流体培养基培养 4 d 时，可见金黄色葡萄球菌生长，符合 ChP 2020 年版要求，但敏感菌生长速度比阳性对照组稍慢，说明样品抑菌性仍未完全消除。

综合“**2.4**”项下的初步试验结果可知，本创伤敷料有较强的抑菌性，而在供试液的上膜量为每膜 0.5 g 时进行检测。鉴于二次过滤法过于烦琐，拟采用供试液直接薄膜过滤的方法，因此继续进行下步试验以优化条件。

2.5　薄膜过滤法的优化

按“**2.3**”项下样品前处理条件方法制备 1 ∶ 10 的供试液，取 0.5 g，经薄膜过滤法处理。以含 0.3% 聚山梨酯 80 的 0.9% 无菌氯化钠溶液为冲洗液，每膜设置 300、500 mL 冲洗量冲洗，取破胶后的整个体系（含上清液和沉淀物）一起过滤，滤干后注入含 1% 聚山梨酯 80 的硫乙醇酸盐流体培养基，以金黄色葡萄球菌为敏感菌，依法试验。

结果如表 5 所示，在冲洗液中加入 0.3% 聚山梨酯 80，同时在培养基中加入 1% 聚山梨酯 80，当每膜冲洗量为 300 mL，金黄色葡萄球菌生长良好，说明该供试液每膜 0.5 g 的上样量在上述条件下可消除抑菌性。

2.6　方法适用性试验

取本品 10 支，共 30 g，加入无菌的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液 210 mL，振摇，使分散均匀，再加入无

表 5　用含中和剂的无菌氯化钠溶液冲洗后的金黄色葡萄球菌培养结果

Tab.5　Culture Results of *Staphylococcus aureus* after Rinsing with Sterile Sodium Chloride Solution Containing Neutralizing Agent

组别	冲洗量 /mL	培养天数 /d				
		1	2	3	4	5
试验组	300	+	+	+	+	+
	500	+	+	+	+	+
阳性对照组	300	+	+	+	+	+
中和剂对照组	300	+	+	+	+	+
阴性对照组	300	—	—	—	—	—

注：“+”代表有菌生长；“—”代表无菌生长。

表 3　不同上样量所得的上清液对金黄色葡萄球菌培养结果

Tab.3　Culture Results of *Staphylococcus aureus* by Supernatant with Different Loading Amounts

组别	冲洗量 /mL	培养天数 /d									
		上样量 1 g 供试品					上样量 0.5 g 供试品				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
试验组	200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	500	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
阳性对照组	200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
中和剂对照组	200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
阴性对照组	200	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注：“+”代表有菌生长；“—”代表无菌生长。

表 4　不同上样量所得的沉淀物对金黄色葡萄球菌培养结果

Tab.4　Culture Results of *Staphylococcus aureus* by Sediment with Different Loading Amounts

组别	培养基装量 /mL	培养天数 /d									
		上样量 1.0 g 供试品沉淀物					上样量 0.5 g 供试品沉淀物				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
试验组	250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	500	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
阳性对照组	250	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
阴性对照组	250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注：“+”代表有菌生长；“—”代表无菌生长。

菌的 0.1 mol/L 氯化钙溶液至适量，充分振摇，静置 5 ～ 10 min，制成 1 ∶ 10 供试液液。取 1 ∶ 10 的供试液 5 mL 进行薄膜过滤（每膜过滤量不超过 0.5 g），用含 0.3％聚山梨酯 80 的 0.9％无菌氯化钠溶液冲洗（每膜≥ 300 mL），注入含 1％聚山梨酯 80 的培养基 100 mL，按 ChP 2020 年版四部（通则 1101）进行试验，作为供试品组；同供试品组操作，在最后一次冲洗液中加入不同的菌种，作为试验组；以 pH 6.8 PBS 和 0.1 mol/L 氯化钙溶液作为稀释液代替供试液，同试验组操作，作为中和剂对照组；以同中和剂对照组的稀释液代替供试液，不加入菌液，同试验组操作，为阴性对照组。

结果如表 6、表 7 所示。供试品组和阴性对照组均无菌生长；试验组与阳性对照组相比，6 种试验菌在规定的培养时间内均生长良好，说明供试品的该检验量在上述检验条件下无抑菌作用或抑菌作用可以忽略不计，即所建立的检查方法可行。根据供试品的特性，选择金黄色葡萄球菌为阳性对照菌。

3 讨论

本品含卡波姆成分，因而难以通过薄膜过滤器。在试验初期曾尝试直接接种法，但由于样品中含有抑菌作用较强的茶树油成分，以 0.5 g 的接种量接种，培养基体积装量达到 500 mL 时仍无法消除本品的抑菌活性，因而直接接种法不适合抗菌素类或抑菌作用较强的供试品[11]。

含卡波姆成分的样品运用薄膜过滤法时，要先排除卡波姆对试验的干扰，通过二价金属离子破胶，能从根本上解决了不易过滤的问题。经破胶后的供试液通常会形成沉淀物，为了更好地防止微生物的漏检，在供试品允许的条件下，应将上清液和沉淀物一起培养[11]。鉴于此，本研究中考察了不同金属离子的前处理，一方面考查过滤的可操作性，另一方面考查形成的沉淀物是否对微生物的检出造成影响。试验表明，样品经 0.1 mol/L 的 Ca^{2+} 和 Mn^{2+} 处理后均可以顺利过滤，但 Mn^{2+} 会形成较大的团状物，不易散开，可能会包裹微生物影响检出。对于不同的品种，应根据试验的实际结果选择适当的金属离子。

此外，在冲洗液和培养基中加入适当的聚山梨酯 80，可较好地消除样品的抑菌活性。聚山梨酯对抑菌性药品的中和作用已有相关报道[12—13]。聚山梨酯 80 是一种非表面离子活性剂，分子中失水山梨醇环和较长的碳链结构具有亲油性，而聚氧乙烯基具有亲水性，醚键氧原子与水中的氢原子形成氢键，从

表 6 供试品组和阴性对照组培养结果

Tab.6 Culture Results of Test Group and Negative Control Group

组别	培养基	培养天数 /d													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
供试品组	硫乙醇酸盐流体培养基（33 ℃）	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	胰酪大豆胨液体培养基（23 ℃）	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
阴性对照组	硫乙醇酸盐流体培养基（33 ℃）	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	胰酪大豆胨液体培养基（23 ℃）	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

注：“+”代表有菌生长；“—”代表无菌生长。

表 7 连续 5 d 的阳性对照菌培养结果

Tab.7 Culture Results of Positive Control Bacteria in Five Days

培养基	菌种	试验组 / 批号				
		210301	210302	210303	阳性对照组	中和剂对照组
硫乙醇酸盐流体培养基（33 ℃）	金黄色葡萄球菌	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
	大肠埃希菌	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
	生孢梭菌	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
	枯草芽孢杆菌	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
胰酪大豆胨液体培养基（23 ℃）	白念珠菌	—++++	—++++	—++++	—++++	—++++
	黑曲霉	—++++	—++++	—++++	—++++	—++++

注：“+”代表有菌生长；“—”代表无菌生长。

而对亲脂性成分起到助溶作用[14]。因此，对于含有茶树油的制剂，可添加适当浓度的聚山梨酯 80，达到助溶和消除抑菌性的目的。ChP 2020 年版四部通则 1101 指出，对于非水溶性供试品，可用含 0.1%～1%聚山梨酯 80 的冲洗液冲洗。试验中曾考察冲洗液中聚山梨酯 80 的浓度，结果观察到当聚山梨酯 80 达到 0.5%以上时，冲洗过程中会产生大量泡沫引起集菌仪过压，影响试验，因此不宜采用。

通过本研究确立的创伤敷料无菌检查方法为：取本品，每 10 g 加入无菌的 pH 6.8 磷酸盐缓冲液 70 mL，使分散均匀，加入无菌的 0.1 mol/L 氯化钙溶液，摇匀，静置 5 ～ 10 min，制成 1 ∶ 10 供试液。取供试液，摇匀后取 5 mL（相当于含创伤敷料 0.5 g）加至 0.9%无菌氯化钠溶液 50 mL 中，经薄膜过滤法处理，用含 0.3%聚山梨酯 80 的 0.9%无菌氯化钠溶液分次冲洗（每膜冲洗量不少于 300 mL），注入含 1%聚山梨酯 80 的硫乙醇酸盐流体培养基或胰酪大豆胨液体培养基 100 mL，以金黄色葡萄球菌为阳性对照菌，依法检查（ChP 2020 四部通则 1101），应符合规定。

综上所述，本研究中运用 Ca^{2+} 和 pH 6.8 的磷酸盐缓冲溶液对创伤敷料中的卡波姆进行破胶处理，取混悬液薄膜过滤，用含聚山梨酯 80 的冲洗液冲洗，同时在培养基中加入聚山梨酯 80，既可以防止本品微生物的漏检，又可以消除本品的抑菌活性。该方法可为含茶树油、卡波姆等成分的制剂的无菌检查提供参考。

参考文献：

[1] 耿　欣，高志鹏，张凯奇，等．茶树叶精油成分和功能研究进展［J］．食品科学，2018, **39**(21)：299-307.

[2] 陶凤云，张新妙，俞　军，等．茶树油抗菌作用机理研究进展［J］．中国抗生素杂志，2006,(5)：261-266.

[3] AKIYAMA Y, NAGAHARA N, KASHIHARA T, *et al*. *In vitro* and *in vivo* e-valuation of mucoadhesive microspheres prepared for the gastroin-testinal tract using polyglycerol esters of fatty acids and poly de-rivative［J］. *Pharm Res*, 1995, **12**(3)：397.

[4] 秦文文．茶树精油抗菌活性及其安全性研究［D］．北京：中国农业科学院硕士研究论文，2018.

[5] 曲　萍，仇丽霞，赵思俊，等．卡波姆抑菌凝胶剂微生物限度检查方法的建立［J］．药物分析杂志，2013, **33**(8)：1317-1321.

[6] 赫爱平，张亚杰，郎　非，等．加替沙星眼用凝胶中微生物检查法的建立［J］．华西药学杂志，2008, **23**(6)：701-703.

[7] 钱文静，张　玫，袁耀佐．盐酸特比萘芬凝胶微生物限度检查方法的验证［J］．药物分析杂志，2008, **28**(12)：2135-2139.

[8] 张光华，李玉立，刘文杰，等．盐酸环丙沙星凝胶的微生物限度检查方法［J］．中国医药工业杂志，2020, **51**(8)：997-1001.

[9] 冯　璐，曹　敏，钮晓淑，等．甲硝唑凝胶微生物限度检查方法适用性研究［J］．中国药业，2022, **31**(18)：69-72.

[10] 刘冬玲，李　芳，冯　震，等．林可霉素利多卡因凝胶微生物限度检查方法的探究［J］．药物分析杂志，2018, **38**(5)：838-843.

[11] 丁　勃，徐晓洁，冷佳蔚，等．双滤膜过滤方法的建立及在卡波姆眼用凝胶无菌检查试验中的应用［J］．药物分析杂志，2014, **34**(5)：800-804.

[12] 姬　俊，刘婷婷，牛萌萌，等．卵磷脂和聚山梨酯 -80 联用在中药制剂抑菌活性中的中和作用［J］．中国药师，2017, **20**(3)：586-588.

[13] 廖祥茹，陈　晨，李　旸，等．聚山梨酯 80 在微生物限度检查中的应用［J］．中国药师，2014, **17**(10)：1776-1777.

[14] 聂黎行，何雨晴，戴　忠，等．聚山梨酯 80 质量评价及检测方法的研究概况［J］．药物评价研究，2017, **40**(7)：1005-1012.