مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

دراسة كفاءة البارابينات من الناحية الميكروبيولوجية والكيميائية في نموذج من القطورات العينية المصنعة محلياً

الدكتور منى مرعي*
الدكتور نزيه داؤد**
محمد فيصل وليد***

(تاريخ الإيداع 2 / 1 / 2012. قُبِل للنشر في 6 / 3 /2012)

□ ملخّص □

تعد البارابينات من أكثر المواد الحافظة استخداماً في القطورات العينية وهي فعالة ضد الجراثيم إيجابية الغرام +Gr وفعالة ضد الفطور والخمائر (Soni,2005) ولكنها ضعيفة الفعالية ضد الجراثيم سلبية الغرام -Gr مثل الزائفة الزنجارية (Fraise,2004). هدفت هذه الدراسة إلى تقييم كفاءة البارابينات ميكروبيولوجياً وكيميائياً في نموذج من قطورات عينية محلية الصنع.

شملت هذه الدراسة 45 قطرة عينية من السوق المحلية من نفس النوع ومن نفس الشركة حاوية على البارابينات كمواد حافظة وهي النيباجين والنيبازول، درست عقامة هذه القطورات ثم طبّق عليها اختبار التحدّي Challenge test، وتم حساب التركيز الأصغري المثبط (MIC) من البارابينات العيارية (النيباجين والنيبازول)، وحساب تركيز البارابينات في القطورات المدروسة.

أجريت الاختبارات السابقة في مخبر الجراثيم في كلية الصيدلة، جامعة تشرين، في الفترة الواقعة بين حزيران 2010 إلى أيلول 2011.

ظهر لدينا نمو جرثومي عائد للمكورات العنقودية البشروية في قطرة واحدة من القطورات المدروسة (2.22%) وبعد إجراء التحاليل الكيميائية لحساب تركيز البارابينات المستخدمة في هذه القطرة تبين انخفاض تركيزها بمعدل 10.3% عن التركيز المصرح به على العبوة، أما التركيز في باقي القطورات فكان مطابقاً للتركيز المصرح به.

أظهرت نتائج اختبار التحدي أن البارابينات الموجودة في القطورات المدروسة كانت مطابقة للشروط المرجعية بالنسبة لكل من المكورات العنقودية الذهبية والمكورات الأحادية والايشيرشيا المعوية، بينما لم تطابق شروط اختبار التحدي بالنسبة للزائفة الزنجارية.

كانت قيم MIC بالنسبة للبارابينات العيارية هي 0.0495% بالنسبة للمكورات العنقودية الذهبية، و 0.066% بالنسبة لكل من المكورات الأحادية والايشيرشيا المعوية والزائفة الزنجارية.

الكلمات المفتاحية: بارابينات، قطورات عينية، MIC، اختبار التحدي.

* أستاذة- قسم الأحياء الدقيقة والكيمياء الحيوية- كلية الصيدلة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.
** أستاذ- قسم علم النبات - كلية العلوم- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.
*** طالب دراسات عليا (ماجستير)- قسم الأحياء الدقيقة والدمويات والمناعيات- كلية الصيدلة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (34) العدد (1) 2012
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (34) No. (1) 2012

Microbial and Chemical Assessment of Efficacy of Parabens as Preservatives in Samples from Locally Produced Eye Drops

Dr. Mouna Morie*
Dr. Nazih Daood**
Mohammad Walid***

(Received 2 / 1 / 2012. Accepted 6 / 3 / 2012)

□ ABSTRACT □

Background: The Parabens are the most preservatives used in ophthalmic drops. These preservatives are effective against Gram-positive bacteria, fungi and yeasts (Soni,2005). However, they are weak against Gram-negative bacteria such as *Pseudomonas aeruginosa* (Fraise, 2004). The aim of this study was to assess the antimicrobial and chemical efficiency of the Parabens in a one type of local produced eye drops.

Materials and methods: A total of 45 samples of one type of eye drops were collected from the local market (from the same pharmaceutical company). These eye drops contain Parabens as preservatives (Nipasol- Nipagin). All samples were tested by their sterility and then subjected to the challenge test. In addition, the minimal inhibitory concentrations (MIC) of standard (Nipasol-Nipagin) were calculated as well as determination of the concentration of the Parabens in these samples.

All tests were carried off in laboratory of microbiology in the College of Pharmacy-University of Tishreen, during a period of June 2010 to September 2011.

Results: Bacterial growth (*staphylococcus epidermidis*) appeared in one drop sample of eye drops studied (2.22%). However, chemical analysis of the Parabens found in this contaminated drop showed decreasing as low as 10.3% of the authorized concentration on the package.

the Parabens concentration in the rest of eye drops were identical to authorized concentrations.

The results of the challenge test showed that the Parabens used in eye drops studied were identical to the related reference studies for *staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus* and *Escherichia coli*, but not for *Pseudomonas aeruginosa*.

The MIC values for the standard Parabens were 0.0495% for staphylococcus *aureus*, and 0.066% for all *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Parabens, Eye Drops, MIC, Challenge Test.

* **Professor, Department of Microbiology and Biochemistry, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
** **Professor; Department of Botany, Faculty of Science, Tishreen University, Lattakia, Syria.**
*** **Postgraduate student, Department of Microbiology and hematology and immunology, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.**

مقدمة:

تستخدم المواد الحافظة لمنع أو تثبيط نمو الميكروبات في المستحضرات الصيدلانية. إن نمو الميكروبات يؤدي إلى تخرب المستحضر والمادة الفعالة ويصبح مصدراً للتلوث (Happel,1983)، ويمكن لهذه الميكروبات أن تتكاثر خلال مراحل الحفظ أو الاستخدام من قبل المريض وخاصة بالنسبة للمستحضرات المتعددة الجرعات(USP,1980) .

تعد المستحضرات الحاوية على الماء من أشد المستحضرات المعرضة للتلوث الميكروبي مثل المحاليل والمعلقات والمستحلبات المعدة للاستخدام الفموي، والمحاليل المعدة للاستخدام الخارجي والكريمات (Mokhtari ,2008)، والمستحضرات العقيمة المعدة للاستخدام المتكرر مثل المستحضرات الزرقية والقطورات العينية (European Guideline,1997).

تشكل القطورات العينية الملوثة عامل خطورة يؤدي إلى حدوث التهابات على السطح البصري (Geyer,1995) حيث سجلت أنتانات ناتجة عن استخدام قطورات عينية ملوثة بالزائفة *Pseudomonas* وبعض حالات من التهاب القرنية بـ *Serratia* (من عائلة الأمعائيات Enterobacteriaceae) ناتجة عن تلوث القطارات وسداداتها(Templeton,1982)، ووجد أن 5.6% من القطورات العينية المجموعة من المشافي والعيادات والمرضى ملوثة بالجراثيم(Du Bois,1989) .

يتراوح معدل التلوث للقطورات العينية الحاوية على مواد حافظة بين 2.2% و34.8% وهذا يعتمد على نوع وكفاءة وتركيز المادة الحافظة المستخدمة (Tasli,2001)، حيث أثبت وجود علاقة وثيقة بين كفاءة المواد الحافظة في القطورات العينية وحجم التلوث الميكروبي في أثناء الاستخدام (Samadi,2009).

تستخدم البارابينات Parabens في القطورات العينية كمواد حافظة وهي عبارة عن أسترات حمض بارا هيدروكسي البنزوئيك (Weiner,1989)، وهي فعالة ضد الجراثيم ومسببات العفن بتراكيز منخفضة (Soni,2005)، عديمة اللون ليس لها طعم أو رائحة، غير مخرشة وضعيفة السمية وثابتة وفعالة ضمن طيف واسع من pH وهي غير متطايرة وسعرها غير مرتفع، وهي أكثر مادة حافظة تقترب من النموذجية (McDavid,1973)، يستخدم ميتيل بارابين (النيباجين) في القطورات العينية بتركيز يتراوح بين (0.2-0.015) ويستخدم بروبيل بارابين (النيبازول) بتركيز يتراوح بين (0.01-0.005) وهي أكثر المشتقات استخداماً وغالباً ما تستخدم مع بعضها لتوسيع الطيف المضاد للميكروبات، ويرتبط استخدام البارابينات بالانحلالية بالماء (Decker,1987).

أهمية البحث وأهدافه:

يعد هذا البحث ذا جدوى صحية واقتصادية حيث يدرس كفاءة المادة الحافظة المستخدمة في القطورات العينية (كممثل عن المستحضرات الصيدلانية الأكثر حساسية تجاه التلوث الميكروبي)، ففي حال عدم استخدام التركيز اللازم من المادة الحافظة أو عدم كفاءتها في القضاء على الميكروبات هذا سيؤدي إلى دخول ميكروبات إلى العين وتلوثها والوصول إلى نتائج صحية خطيرة.

ولذلك قمنا بإجراء هذه الدراسة على قطورات عينية محلية الصنع حاوية على البارابينات لتقييم مدى قدرة محتواها من هذه المادة الحافظة على حماية المستحضر من النمو الميكروبي وهذا يحقق استخدام المريض لأدوية عقيمة خالية من النمو الميكروبي.

إضافة إلى التأكد من استخدام البارابينات ضمن التراكيز المرجعية الموصى بها لتلافي ظهور الآثار الجانبية المرافقة لزيادة هذه التراكيز، مما يحقق رفع كفاءة الدواء السوري بما يتوافق مع مصلحة الفرد والمجتمع ويصب في خدمة التنمية الطبية في القطر.

يهدف البحث إلى تحديد قدرة البارابينات على الاحتفاظ بفعاليتها خلال فترة صلاحية الدواء علماً أن جميع القطورات المستخدمة كانت ضمن حدود الصلاحية، وتحديد كفاءتها تجاه ميكروبات محددة، إضافة إلى تحديد تركيز البارابينات المستخدمة ومدى مطابقتها للكمية المعلن عنها.

طرائق البحث ومواده:

- **عينة الدراسة:**

شملت عينة الدراسة 45 قطرة عينية منتجة محلياً من نفس النوع ومن نفس الشركة وموزعة على ثلاث دفعات، تحتوي على نيباجين ونيبازول كمادة حافظة بتركيز 23 ملغ/100مل (0.023%) من النيباجين و10ملغ/100مل (0.01%) من النيبازول.

- **اختبار العقامة Sterility test :**

تم اختبار عقامة القطورات المدروسة من خلال زراعتها على خمسة أوساط زرعية مختلفة وهي:

Tryptone - Soyabean-Casein Digest Agar - Sabouraud Agar - B.A (Blood Agar) Nutrient Agar - Soya Broth (T.S.B) (Indian Pharmacopoea,1996).

تم الزرع باستخدام ماسحات قطنية عقيمة بطريقة التطعيم المباشر (Remington,2006) ، وذلك ضمن ظروف عقيمة باستخدام جهاز Laminar flow.

حضنت الأطباق بعد زرعها في الحاضنة بالدرجة 37 C° لمدة 14 يوم (USP 24,1999) وفحصت يومياً للكشف عن أي نمو ميكروبي، ثم أجريت فحوصات المطابقة الأولية (تلوين غرام) والثانوية (الاختبارات البيوكيميائية) على المستعمرات الجرثومية الناتجة بهدف تحديد جنسها ونوعها (Murray et al, 1999).

- **اختبار التحدي Challenge test :**

طبق اختبار التحدي على القطورات العينية المدروسة لتحديد كفاءة البارابينات وذلك بوضع هذه المستحضرات على تماس مع عدة جراثيم (Fiorentino,2011) واستخدم في هذه الدراسة سلالات جرثومية منمّطة من مخبر الجراثيم في كلية الصيدلة-جامعة تشرين وهي : المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* - مكورات أحادية *Micrococcus luteus* - الايشيرشيا المعوية *Escherichia coli* - الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa*.

تم ضبط امتصاصية معلق الجراثيم بشكل مطابق لعكارة ماكفرلاند (McFarland 0.5) (CLSI,2007) ومن خلال هذا العكر فإن المعلق يحوي على $1x10^8$ cell/mL من الجراثيم المدروسة (ISIRI 5874,2003)، وتم حساب تعداد المستعمرات الجرثومية في كل أنبوب CFU (colony forming units) بطريقة Pour Plate technique (Garbutt,1997).

درست CFU لكل أنبوب في اليوم السابع واليوم الرابع عشر واليوم الثامن والعشرين وحسبت التغييرات اللوغاريتمية لتركيز الجراثيم بدءاً من التركيز البدئي لكل ميكروب (USP 31,2008)، بحيث تجتاز المادة الحافظة هذا الفحص في حال حققت الشروط التالية:

-تناقص في التركيز البدئي للجراثيم بما لا يقل عن لوغاريتم واحد في اليوم 7.

-تناقص في التركيز البدئي للجراثيم بما لا يقل عن ثلاثة لوغاريتمات في اليوم 14.

-وفي اليوم 28: عدم وجود زيادة لوغاريتمية في التركيز مقارنة بالتركيز في اليوم 14.

- **التركيز الأصغري المثبط MIC :**

وهو بالتعريف أقل تركيز من المادة الحافظة قادر على تثبيط النمو الظاهري للميكروبات (The Minimal Inhibitory Concentration) MIC بعد حضن لمدة ليلة كاملة (Collee,1996)، وهنا قمنا بتحضير أربعة تراكيز من المادة الحافظة باستخدام الوسط الزرعي TSB (Tryptic Soy broth) تمثل نفس التركيز المصرح به على العبوة وضعف التركيز ونصف التركيز وربع التركيز المصرح به (CLSI,2005)، ووضعها في أنابيب وتطعيم كل أنبوب بتركيز محدد من الميكروبات بحيث كل أنبوب يحتوي تقريباً على 10^6 CFU/ml من الميكروبات المدروسة (ISIRI 5874,2003)، قرأت النتائج من خلال ملاحظة ظهور عكر دال على النمو الميكروبي في الأنابيب المدروسة ومقارنتها بالأنابيب الشاهدة (CLSI,2005).

- **التحديد الكمي للبارابينات في القطورات المدروسة:**

استخدمت طريقة التحليل الطيفي الامتصاصي لتحديد تركيز البارابينات في القطورات وذلك باستخدام تقنية Ultraviolet Spectrophotometer حيث تملك البارابينات امتصاصية أعظمية عند طول موجة 255 nm (Moffat,1986)، تم تحضير سلسلة تمديدات من المحلول العياري وقياس الامتصاصية الموافقة للحصول على علاقة خطية بين التركيز والامتصاصية.

النتائج والمناقشة:

➢ **اختبار العقامة والمطابقة الجرثومية:** ظهر لدينا نمو جرثومي في قطرة واحدة (بنسبة 2.22%) وبعد إجراء المطابقة على المستعمرات الناتجة تبين أنها مكورات عنقودية بشروية *Staphylococcus epidermidis*، وهذا يتوافق مع دراسة الباحث Tasli والباحث Cosar التي جرت في العام 2001 في تركيا، والتي أكدا فيها على أن أغلب الجراثيم الملوثة للقطورات العينية غير المفتوحة هي جراثيم المكورات العنقودية.

➢ **اختبار التحدي للقطورات المدروسة:** نلاحظ من الجدول رقم (1) أن البارابينات ضمن التركيز المستخدم في القطورات المدروسة كانت مطابقة لشرط اختبار التحدي بالنسبة لجراثيم المكورات العنقودية الذهبية والمكورات الأحادية والايشيرشيا المعوية، حيث تناقص التركيز البدئي للجراثيم الحية بمعدل لوغاريتم واحد على الأقل في اليوم 7، وثلاثة لوغاريتمات على الأقل في اليوم 14، أما في اليوم 28 فلاحظنا توقفاً تاماً لنمو الجراثيم (أي لم يرتفع تركيز الجراثيم في هذه المرحلة عن تركيزها في اليوم 14).

جدول(1): يبين نتائج اختبار التحدي Challenge Test على القطورات العينية المدروسة

الجراثيم	التركيز البدئي CFU/mL	تركيز الجراثيم الحية (CFU/mL) بعد:			النتيجة
		7 يوم	14 يوم	28 يوم	
المكورات العنقودية الذهبية	2.3×10^{5}	2.0×10^{1}	<10	<10	مطابق
المكورات الأحادية	5.0×10^{5}	3.0×10^{1}	<10	<10	مطابق
الايشيرشيا المعوية	4.0×10^{5}	7.0×10^{4}	7.0×10^{1}	<10	مطابق
الزائفة الزنجارية	7.1×10^{5}	4.8×10^{5}	3.1×10^{4}	4.0×10^{2}	غير مطابق

لاحظنا في المقابل أن البارابينات ضمن التركيز المستخدم غير مطابقة لشرط اختبار التحدي بالنسبة لجراثيم الزائفة الزنجارية حيث لم يحدث تناقص في التركيز البدئي للجراثيم في اليوم السابع واليوم الرابع عشر، أي أن البارابينات ضمن التركيز المستخدم غير قادرة على تثبيط نمو الزائفة الزنجارية، وهذا يتوافق مع دراسة الباحث (Brown,1967) حيث أشار إلى أن تركيز 0.0229% من النيباجين و0.0114% من النيبازول المستخدم في القطورات العينية كمادة حافظة، لا يثبط جراثيم الزائفة الزنجارية.

- **دراسة التركيز الأصغري المثبط MIC:** حضرت أربعة تراكيز من البارابينات كما هو مشروح سابقاً ووزعت في ثمانية أنابيب اختبار كما هو مبين بالجدول رقم (2) بحيث يحتوي كل أنبوبين على تركيز واحد (لتكرار الاختبار والتأكد من النتيجة)، تمت قراءة النتائج بعد حضن ليلة كاملة وكانت النتائج بالشكل التالي:

جدول(2): يوضح قيم التركيز الأصغري المثبط (MIC) للمجموع الكمي للنيباجين والنيبازول

	ضعف التركيز المستخدم في القطرة		نفس التركيز المستخدم في القطرة		نصف التركيز المستخدم في القطرة		ربع التركيز المستخدم في القطرة		MIC
نيبازول غ %	0.02		0.01		0.005		0.0025		
نيباجين غ %	0.046		0.023		0.0115		0.00575		
مجموع البارابينات	0.066		0.033		0.0165		0.00825		
أرقام الأنابيب	1	2	3	4	5	6	7	8	
المكورات العنقودية الذهبية	−	−	−	+	+	+	+	+	%0.0495
مكورات أحادية	−	−	+	+	+	+	+	+	%0.066
الايشيرشيا المعوية	−	−	+	+	+	+	++	++	%0.066
الزائفة الزنجارية	−	−	+	+	++	++	++	++	%0.066
− لا يوجد عكارة			+ يوجد عكارة				++ عكارة شديدة		

نلاحظ من الجدول السابق أن التركيز الأصغري المثبط لـ المكورات العنقودية الذهبية هو 0.0495% من المجموع الكمي للنيباجين والنيبازول باعتبار أن العكر لم يظهر في الأنبوب رقم 3 الحاوي على تركيز 0.033% من البارابينات ولكنه ظهر في الأنبوب رقم 4 من نفس التركيز، ولذلك أخذنا القيمة الوسطية بينه وبين التركيز الأعلى منه مباشرة، بينما كانت قيمة التركيز الأصغري المثبط من البارابينات لنفس المكورات تساوي 0.075% في دراسة الباحث Mokhtari F في العام 2008 التي أجريت في إيران.

بالنسبة لـ المكورات الأحادية والايشيرشيا المعوية والزائفة الزنجارية: التركيز الأصغري المثبط لها من المجموع الكمي للنيباجين والنيبازول هو 0.066%، بينما بلغت هذه القيمة 0.075% بالنسبة لـ الايشيرشيا المعوية و0.15% بالنسبة لـ الزائفة الزنجارية في دراسة الباحث Mokhtari F نفسها، ولم تشمل دراسته المكورات الأحادية.

أجريت عدة دراسات عالمية لتحديد قيمة MIC لكل نوع من البارابينات وحده، نذكر منها دراسة الباحث Wallhausser في العام 1984، والباحث Tattawasart وزملاءه في العام 1999، ودراسة الباحث Rieger في العام 2000. يبين الجدول رقم 3 تلخيص لهذه القيم ومقارنتها بالنتيجة التي ظهرت معنا.

جدول (3): يبين مقارنة نتائج (MIC) لـ النيبازول والنيباجين في دراستنا وبعض الدراسات العالمية

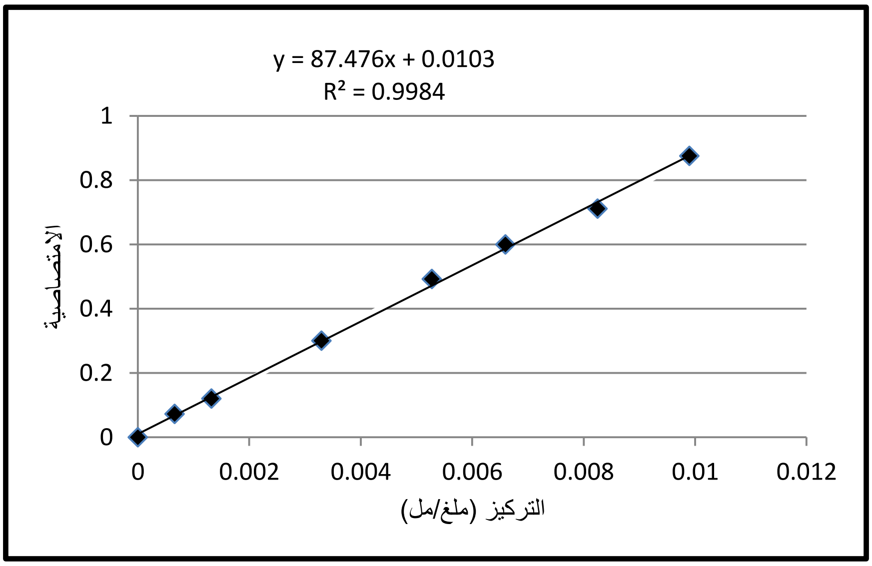
اسم الباحث والتاريخ	المكورات العنقودية الذهبية		الايشيرشيا المعوية		الزائفة الزنجارية	
	MIC للنيبازول%	MIC للنيباجين%	MIC للنيبازول %	MIC للنيباجين %	MIC للنيبازول %	MIC للنيباجين %
Wallhausser,1984	0.015	0.08	0.03	0.08	0.04	0.1
Tattawasart,1999	–	–	–	–	0.05<	0.1<
Rieger,2000a Rieger,2000b	0.05<	0.2	0.05<	0.1	0.1<	0.4
دراستنا – 2012	0.05	0.1	0.05	0.1	0.2	0.2

➢ **التحديد الكمي للبارابينات في القطورات المدروسة:**

حضرت سلسلة تمديدات عيارية من المحلول العياري المطابق للقطرة التجارية كما هو موضح في الجدول رقم 4 وذلك للحصول على علاقة خطية بين امتصاص البارابينات وتركيزها كما هو موضح في الشكل رقم 1.

جدول(4): يبين دلالة امتصاصية البارابينات بالنسبة للتركيز

نسبة تمديد المحلول العياري	امتصاصية البارابين في التمديد الموافق	تركيز البارابين في التمديد الموافق ملغ/مل
33.33	0.875	0.0099
40	0.711	0.00825
50	0.6	0.0066
62.5	0.492	0.00528
100	0.3	0.0033
250	0.12	0.00132
500	0.073	0.00066
Water	0	0
تركيز البارابين في المحلول العياري: 33ملغ/100مل (0.33ملغ/مل)		



شكل(1): خط بياني يوضح دلالة امتصاصية البارابينات بالنسبة للتركيز

درست امتصاصية وتركيز البارابينات في القطرة التجارية التي ظهر فيها نمو: فتبين انخفاض تركيز البارابينات في هذه القطرة بمقدار 10.3% عن التركيز المصرح به على العبوة كما هو موضح بالجدول رقم 5.

جدول(5): يوضح امتصاصية وتركيز البارابينات في القطرة التجارية التي ظهر فيها نمو

نسبة التمديد	امتصاصية البارابين في القطرة	تركيز البارابين في القطرة ملغ/مل	النسبة المئوية للتركيز الموجود من المادة الحافظة
33.33	0.788	0.008890439	89.8024093
40	0.66	0.00742718	90.02642456
50	0.534	0.005986785	90.70886283
62.5	0.429	0.004786456	90.65257033
100	0.27	0.002968814	89.9640698
250	0.113	0.001174036	88.94214448
500	0.061	0.000579588	87.81629455
Water	0	التركيز الوسطي	89.70182512

وللتأكد من دقة النتائج بالنسبة للتركيز المستخدم من البارابينات، قمنا بإعادة الاختبار على ثلاث قطورات تجارية شاهدة على العمل لم يظهر فيها نمو، فتبين أن تراكيز البارابينات في هذه القطورات كان مقارب للتركيز المصرح به على العبوة (مع اختلاف بسيط 2.79%) كما يوضح الجدول رقم 6.

جدول(6): يوضح النسب المئوية للتركيز الكمي من البارابينات في القطورات التجارية الشاهدة على العمل

نسبة التمديد	النسبة المئوية لتركيز البارابينات في القطرة الأولى	النسبة المئوية لتركيز البارابينات في القطرة الثانية	النسبة المئوية لتركيز البارابينات في القطرة الثالثة
33.33	97.53901907	98.11637801	98.69373695
40	97.37043026	96.81616568	96.81616568
50	98.15679314	98.67641618	99.71566227
62.5	99.31295441	99.52946401	99.74597361
100	96.89237706	96.19954633	96.89237706
250	95.87045174	95.87045174	91.5402597
500	96.47667862	94.74460181	96.47667862
متوسط النسب المئوية للتركيز الكمي من البارابينات			
	97.37410061	97.13614625	97.12583627

يشار إلى أن الباحثان Ahmad وChishti درسا في العام 1992 في الباكستان مدى مطابقة المحتوى من البارابينات في عدة أنواع من قطورات عينية، فتبين أن القطورات العينية الخمسة التي صرح بمحتواها من البارابينات (2 مصنعة في أمريكا + 3 مصنعة في الباكستان) كانت مطابقة للكمية المصرح بها، أما القطورات العينية المصنعة

في الباكستان وغير المصرح بتركيزها وعددها تسعة كانت تحتوي على زيادة من البارابينات بمقدار (42-110%)، ويُعد هذا التركيز المرتفع مخرشاً للعين بشكل شديد.

الاستنتاجات والتوصيات:

- **الاستنتاجات:**

1. ظهور نمو عائد للمكورات العنقودية البشروية في قطرة واحدة (2.22%) من المحتمل أن يكون ناتجاً عن انخفاض تركيز البارابينات في هذه القطرة بمقدار 10.3% عن التركيز المصرح به على العبوة، كما تبين لدينا عند التحديد الكمي للبارابينات في هذه القطرة.

2. البارابينات ضمن التركيز المستخدم في القطورات العينية غير قادرة على تثبيط نمو الزائفة الزنجارية، بينما تستطيع تثبيط نمو المكورات العنقودية الذهبية والمكورات الأحادية والايشيرشيا المعوية.

3. تركيز البارابينات المستخدم في القطورات العينية أقل من التركيز الأصغري المثبط (MIC) للمكورات العنقودية الذهبية وللمكورات الأحادية وللايشيرشيا المعوية وللزائفة الزنجارية.

- **التوصيات:**

توصلنا بنتيجة هذه الدراسة لمجموعة من النقاط يمكن أن نوصي بها في سبيل تطوير الصناعة الدوائية المحلية ورفد قطاع صناعة القطورات العينية بتوصيات هامة للوصول لمنتج عقيم خال من الميكروبات، وتسليط الضوء على أفكار تقنية جديدة، ومن هذه التوصيات نذكر:

1. وجوب التصريح بنوع المادة الحافظة وتركيزها في جميع القطورات العينية المتعددة الجرعات، وهذا يتوافق مع الشروط المذكورة في دستور الأدوية الأمريكي USP30 للعام 2007.

2. نوصي برفع التركيز المستخدم من البارابينات في القطورات العينية إلى 0.066% حيث يعد هذا التركيز مثبطاً لأغلب الجراثيم التي يحتمل أن تلوّث القطورات العينية، مع العلم أن هذا التركيز لا يسبب تخريشاً للعين.

3. ننصح بالتوجّه لشكل صيدلاني عيني جديد متعدد الجرعات لا يحتوي على مادة حافظة بدأ تطبيقه في العام 1995 في فرنسا يدعى (ABAK) يضمن عدم وصول الميكروبات إلى العين حتى في حال تلوث محلول القطرة، حيث يتم تقطير محتوى القطرة من خلال مرشحة ميكرونية (0.2 ميكرون) تحتجز الميكروبات في حال وجودها، وهذا يبقي القطرة صالحة للاستخدام لمدة شهرين بعد الفتح مقارنة بأسبوعين للقطورات العينية التقليدية المتعددة الجرعات التي تحتوي على مادة حافظة.

4. نوصي بالتقيّد بقواعد ضبط الجودة واتباع طرق عقامة تضمن احتواء القطورات العينية الكمية المحددة من المواد الحافظة وخلوها من أي ميكروبات ناتجة عن المواد الأولية أو بيئة العمل أو شروط النقل والتخزين، مما يحقق رفع كفاءة وجودة الدواء السوري ويصب في خدمة التنمية الطبية في القطر ويساهم في فتح أسواق جديدة للتصدير ودعم الاقتصاد الوطني.

المراجع:

1. AHMAD, I.; CHISHTI, K.A. *Evaluation of Preservatives In Eye-Drop Preparations*. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 1992, 5(1) 25-36.
2. BROWN, M.R.W. *Control of Contamination in Ophthalmic Solutions* Proc. R. Soc. Med. Volume 60, April 1967, page 354-357.
3. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, Approved standard 7th End, 2005, M07-A7.
4. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 16th informational supplement, Wayne, 2007, M100–S17.
5. COLLEE, J.G.; MARMION, B.P., FRASER, A.G.; SIMMONS, A., *Practical Medical Microbiology*. fourteenth edition, 1996, pages: 159-164.
6. DECKER, R.L.; WENNINGER, J.A. *Frequency of Preservative Use In Cosmetic Formulas as Disclosed to FDA*. Cosmet Toilet, 1987, 21-24.
7. DU BOIS, S.K.; PINNEY, R.J.; DAVISON, A.L. *Investigation of The Levels of Bacterial Contamination in Used Eye Drops*. Pharm J, 1989, R39:237.
8. EUROPEAN GUIDELINE. *Inclusion of Antioxidants and Antimicrobial Preservatives in Medicinal Products*. CPMP/QWP/115/95, 1997, http://www.emea.eu.int.
9. FIORENTINO, F.A.M.; CHORILLI, M.; SALGADO, H.R.N. *The Use of The Challenge Test to Analyze Preservative Efficiency in Non-Sterile Cosmetic and Health Products*. Anal, Methods, 2011, 3:790.
10. FRAISE, A.P.; LAMBERT, P.A.; MAILLARD, J.Y. *Disinfection, Preservation & Sterilization*. Fourth edition, 2004, 3- 61.
11. GARBUTT, J. *Essential of Food Microbiology*. Chapter 11, 1997, pages: 207-212.
12. GEYER, O.; BOTTONE, E.J.; PODOS, S.M.; SCHUMER, R.A.; ASBELL, P.A. *Microbial Contamination of Medications Used to Treat Glaucoma*. Br J Ophthalmol, 1995, 79:376-379.
13. HAPPEL, J.A. *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Third edition, part 4, 1983, Antimicrobial Preservatives in Pharmaceuticals, 579-589.
14. Institute of Standards and Industrial Researches of IRAN (ISIRI 5874). *Determination of Effectiveness of Preservatives by Challenge Test*, Cosmetics, 2003.
15. MC DAVID, J.E. *Characteristics of The Parabens as Preservatives, International Symposium on Preservatives in Biological Products*. Standard 24, dev. Boil, San Francisco, 1973, 49-55.
16. MOFFAT, A.C. *Clarke`S Isolation and Identification of Drugs*. Second edition, the pharmaceutical press, London, 1986.
17. MOKHTARI, F. *Developing a Test Method for Determining The Effectiveness of Antimicrobial Preservatives*. Research Journal of Biological Sciences 3(9), 2008, 984-988.
18. MURRAY, P.R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C. AND YOLKEN, R. H. *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed .ASM Press, Washington, D.C. 1999.
19. REMINGTON. *The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott Williams & Wilkins, New York, 2006, Vol.–1, 21st. edn.
20. Rieger M.M. *Methylparaben*, In: Kibbe AH, ed. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 3rd ed. Washington, DC: American Pharmaceutical Association, 2000a, 340-344.

21. Rieger M.M. *Propylparaben*, In: Kibbe AH, ed. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 3rd ed. Washington, DC: American Pharmaceutical Association, 2000b, 450-453.
22. SAMADI, N.; TARIGHI, P.; FAZELI, M.R.; MEHRGAN, H. *Evaluation of Antimicrobial Effectiveness of Ophthalmic Drops According To The Pharmacopeial Tests Criteria*. Vol. 17 No.1, DARU, 2009.
23. SONI M.G., CARABIN I.G., BURDOCK G.A. *Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens)*, Food and Chemical Toxicology, 2005, 43, 985–1015.
24. TASLI, H.; COSAR, G. *Microbial Contamination of Eye Drops*, Cent Eur J Public Health, Turkey, 2001, 9(3):162–4.
25. TATTAWASART U.; MAILLARD J. -Y.; FURR J. R.; RUSSELL A. D. *Comparative responses of Pseudomonas stutzeri and Pseudomonas aeruginosa to antibacterial agents*, Journal of Applied Microbiology, 1999, Volume 87, Issue 3, pages 323–331.
26. TEMPLETON, W.C.; EIFERMAN, R.A.; SNYDER, J.W. *Serratia keratitis transmitted by contaminated eyedroppers*. Am J Ophthalmol, 1982, 93:723-726.
27. The United States Pharmacopeial Convention, Inc. The *United States Pharmacopeia* 20th Revision. 1980, Rockville M.D.
28. The United States Pharmacopeial Convention, Inc., *Sterility Tests*, The United States Pharmacopeia 24th ed, 1999, Rockville, MD.
29. The United States Pharmacopeial Convention. *The United States Pharmacopeia*. USP 31, 2008.
30. The United States Pharmacopeial Convention. *The United States Pharmacopeia*. USP 30, 2007, NF25- page 79.
31. WALLHAUSSER, K.H. *Antimicrobial Preservatives Used by The Cosmetic Industry, in Cosmetic and Drug Preservation: principles and practice*, Marcel Dekker, New York, 1984, 605-745.
32. WEINER, M.; BERNSTEIN, I.L. *Adverse Reactions to Drug Formulation Agents*: *a Handbook of Excipients*, Marcel Dekker, New York, 1989, 298-300.