

·药剂学·

鲎法检测葡萄糖氯化钠注射液细菌内毒素的探讨

方维军 沈玲芳 范国信

(上海市松江县中心医院 松江 201600)

摘要 本文通过葡萄糖氯化钠注射液对鲎试剂的灵敏度试验,确定了其对鲎试剂凝集有干扰作用,实验结果表明,采用稀释法可排除干扰,样品 1:2 稀释时,可选用标定灵敏度为 0.25EU/ml 的鲎试剂检测样品的细菌内毒素,该法可提高热原检查的效率和灵敏度,对实际工作具有一定的参考价值。

关键词 葡萄糖氯化钠注射液;鲎试剂;细菌内毒素;干扰试验

热原检查实质上就是内毒素的限量检查。鲎法对内毒素检查具有专一、灵敏、快速简便的特点,但目前药典规定的品种尚有限,因此,扩大应用成了广大药检人员普遍重视的问题。为此,本文根据细菌内毒素检测方法 & 干扰试验的基本原理,对葡萄糖氯化钠注射液的细菌内毒素检测方法进行了研究,提供了 3 批供试品的干扰试验数据^[1~2],证实了其可行性。现报道如下。

一、实验材料

(一)鲎试剂 批号 961219,灵敏度 0.25EU/ml,规格 0.1ml/支,厦门鲎试剂厂。

(二)细菌内毒素工作标准品 批号 961010,含量 10EU/支,厦门鲎试剂厂(经中国药品生物制品检定所检定)。

(三)鲎试剂溶解液 批号 961110,规格 10ml/支,厦门鲎试剂厂。

(四)葡萄糖氯化钠注射液 批号 96091802,96100901,97012802,规格 500ml,

0.5%,0.9%,上海长征制药厂。

(五)电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂),H-92 微型混合器(西巴斯生物技术开发公司)。

二、实验方法

(一)实验准备 所需注射器、针头、试管等器材均在 250℃ 干热灭菌 0.5h,实验均在净化无菌条件下进行。

(二)鲎试剂灵敏度测定 取内毒素工作标准品(10EU/ml)1 支,加鲎试剂溶解液 1ml 旋涡混匀,取 0.2ml 再加鲎试剂溶解液 1.8ml 旋涡混匀,得 1EU/ml,然后分别按 1:1 比例递次稀释成 0.5EU/ml,0.25EU/ml,0.125EU/ml,0.0625EU/ml。

取鲎试剂 4 支分别用 0.1ml 鲎试剂溶解液溶解后,将上述各浓度溶液取 0.4ml 分别加入 4 支鲎试剂中,混匀。置 37 ± 1℃ 水浴中保温 60 ± 2min,结果见表 1。

表 1 鲎试剂的灵敏度试验及葡萄糖氯化钠注射液的干扰试验

品名	细菌内毒素浓度(EU/ml)					阴性对照 ¹
	1.0	0.5	0.25	0.125	0.0625	
内毒素水溶液	++	++	++	--	--	--
	++	++	++	--	--	--
内毒素供 ² 试品溶液	原液	++	--	--	--	--
	++	--	--	--	--	--
	1:2	++	++	++	--	--
	++	++	--	--	--	--
	1:4	++	++	++	--	--
	++	++	++	--	--	--

¹ 取鲎试剂用 0.1ml 鲎试剂溶解液溶解后,加 0.1ml 供试品溶液或水溶液

² 代表 96091802,96100901,97012802 3 个批号结果

(三)干扰试验 用鲎试剂溶解液将供试品稀释成 1:2, 1:4 浓度,同灵敏度测定方法,以供试品原液、1:2 及 1:4 浓度分别将细菌内毒素工作标准品按比例稀释成上述系列浓

度,其余操作均同 2。结果见表 1。

(四)供试品的细菌内毒素检测 将供试品 1:2 稀释液,用鲎试剂(0.25EU/ml, 961219)进行检测,结果见表 2。

表 2 葡萄糖氯化钠注射液鲎法检测结果

供试品批号 (1:2)	检测结果(鲎试剂, 0.25EU/ml, 961219)					
	1	2	3	4	阴性对照	阳性对照 ¹
96091802	-	-	-	-	-	+
96100901	-	-	-	-	-	+
97012802	-	-	-	-	-	+

¹以 0.5EU/ml(2λ_b)内毒素浓度作为阳性对照

(五)热原检查 3 批供试品均为市售合格产品。

三、讨论

1. 药典规定,如有供试品或无供试品测得的灵敏度在 0.5 ~ 2.0λ_b (含 0.5λ_b 和 2.0λ_b) 则认为供试品在该浓度下不干扰试验^[1]。实验证明,葡萄糖氯化钠注射液对 0.25EU/ml 鲎试剂的灵敏度测定为 4λ_b (1EU/ml),有干扰作用,经 1:2 稀释后,测得灵敏度为 1.41λ_b (0.35EU/ml),可排除这种干扰。大输液的内毒素限值规定不得超过

0.5EU/ml,因此相应提高鲎试剂的灵敏度为 0.25EU/ml,即可用于葡萄糖氯化钠注射液的细菌内毒素检测,此法作为替代家兔热原试验值得推广。

2. 本实验采取了有供试品和无供试品测灵敏度同时进行的方法,并设立了供试品的阴性对照,提供了 3 个不同批号的干扰试验数据,使实验结果更为可靠准确。

参考文献

[1]中国药典.1995:附录 77

[2]吴伟洪编.鲎与鲎试验法论文汇编(三).1996:15

鲎法检查大输液中细菌内毒素假阳性结果判定

张会林

(解放军第 25 医院药材科 甘肃酒泉 735000)

自 1988 年 10 月卫生部部颁标准规定^[1],应用鲎法在 5 种大输液中检查细菌内毒素取代热原检查法。由于鲎法具有灵敏度高,特异性强及简便快速等优点。本文采用国产鲎试剂对 100 批大输液进行热原测定,并与家兔法对照,结果证明鲎法(灵敏度为 0.5EU/ml)检查阳性率较家兔法高,我们通过降低鲎试剂的灵敏度,使假阳性结果出现率降低。

一、实验方法和结果

部颁标准细菌内毒素检查仅规定 5 种注射剂的内毒素限值(<EU/ml),根据 5 种注射剂的细菌内毒素限量计算,热原检查家兔法剂量为 10ml/kg(M)和我国内毒素标准品的致热阈 10EU/kg(K),计算出 5 种大输液理论限值(L),根据药品内毒素限值:L = K/M^[2] = 1EU/ml,依据计算结果与规定,大输液的内毒素限值为 ≤1EU/ml。笔者通过对 100 批大输液鲎法检查出现的 10 批阳性结果进行试验性研究,其中 1 管为阳性者 3 批、