

表3 L T法、RT法检测6种大输液热原结果比较

供 试 品 批 数	L T法			K T法			
	+	-	阳性率(%)	+	-	阳性率(%)	
2%甘露醇	10	3	7	30	1	9	1
1%普鲁卡因	8	0	8	0	0	8	0
5%G S	5	0	5	0	0	5	0
复方氯化钠	23	3	20	13	0	23	0
葡萄糖氯化钠	50	4	46	8	0	5	0
甲硝唑	4	0	4	0	0	4	0
总 计	100	10	90	10*	1	99	1*

* 为平均阳性率值

中加入等浓度的内毒素同时进行试验,可清楚地观察到样品对鲎试验的抑制或增强效应。基于这一原理,本文讨论了6种大输液对鲎试验的影响。

3. 不同灵敏度TAL与同一浓度内毒素反应凝胶时间是不同的。利用标准限量凝胶时间法检测供试品热原,对于不同来源灵敏度不同的TAL,只需监测一次标准阳性管的凝胶时间,第二次检查同一供试品,以此时间为标准进行检查判断结果。但每次试验设标准限量管仍属必要。

4. 现行细菌内毒素检查法检测样品热原均作最低灵敏度要求。TAL灵敏度是以1h检测出的内毒素最低浓度进行定义的。实际上,该法是以λ值为最高浓度进行内毒

素限量检查,而内毒素浓度与凝胶时间之间又存在良好的线性关系,标准限量凝胶时间法就是依据这一原理确定检品内毒素限量,通过凝胶时间进行检查的。

5. pH值对鲎试验有影响,本实验所用溶剂均采用具有一定缓冲能力的TAL溶剂稀释检品,以确保在相同条件下考查各样品对鲎试验的影响。

参 考 文 献

1. Munson T E In, Bacterial Endotoxins, Alan R Liss Inc 1985: 211
2. USP 21th NF 16th, 1984, P1165
3. 夏振民等, 中国药学杂志 1989; 24 (4): 223

鲎试剂检测普鲁卡因注射液中微量内毒素的实验研究

济南军区总医院药剂科 张卫星 张岩 高燕 郭建华

由于临床静脉复合麻醉及其它方面应用的需要,医院制剂室经常制备含量为0.5~2%的普鲁卡因输液剂,供临床静脉滴注使用,故对其热原检查应极严格。《中国人民解放军制剂规范》八五版规定用家兔法检查其热原⁽¹⁾,方法不仅成本高、重现性差,

且极易使受试家兔中毒死亡,故基层检验和临床单位不易采用。卫生部部颁标准细菌内毒素检查法可检查四种大输液内毒素限量,作为热原检查的初试方法,⁽²⁾由于普鲁卡因对鲎试剂凝集反应的影响,使其应用受到限制,本文采用双向超滤技术,将注射液中的

普鲁卡因与内毒素分离后, 再进行细菌内毒素检查, 消除了普鲁卡因的干扰, 方法简便, 灵敏快速, 适用于基层检验和临床分析。

实验部分

一、材料与设备

鲎试剂: 灵敏度0.5Eu/ml, 批号900623, 厦门鲎试剂厂。按部颁标准核对, 灵敏度符合规定。

精制大肠杆菌内毒素: 批号880101, 卫生部上海生物制品研究所。

超纯水: 内毒素含量 $\leq 0.05\text{Eu}/\text{ml}$, 厦门鲎试剂厂。

NXC—I型细菌内毒素测定仪, 解放军第155医院研制。

空心纤维型透析器: gambro GF120H, 进口产品。

二、实验方法

双向超滤法: 将蒸馏水管接透析器外侧进液端, 塞紧另一端, 调整进液端蒸馏水进液压力, 使超滤液从透析器内侧一端流出, 弃去前100ml初滤液, 取后续超滤液留作鲎试验阴性对照后, 关闭蒸馏水管, 透析器内侧一端接普鲁卡因注射液, 塞紧另一端, 使超滤液从外侧出液端流出, 出液端可用注射器或真空泵将透析室外侧抽成负压, 以加快超滤速度。普鲁卡因注射液超滤完后, 打开蒸馏水管, 将透析室外侧冲洗3min后, 关闭出液端, 进行反向超滤(反冲), 反向超滤液按原管道接回原瓶内, 至原普鲁卡因注射液体积后, 摇匀, 备测。

细菌内毒素限量检测: 按部颁标准进行。

细菌内毒素定量检查: 样品用超纯水倍比稀释后用鲎法检测, 观察出现阳性反应的最大稀释倍数, 按下式计算内毒素含量: 内毒素(Eu) = 鲎试剂灵敏度(Eu/ml) × 检品体积(ml) × 稀释倍数。

热原检查: 按中国药典热原检查法⁽⁵⁾。

结果

一、普鲁卡因浓度对鲎试验的干扰

2%普鲁卡因注射液经超滤除热原处理后, 加入内毒素一定量, 用含同浓度内毒素的超纯水稀释成不同浓度, 观察其对鲎试验凝集反应的抑制作用。结果见表1。

表1 普鲁卡因浓度对鲎试验的影响

内毒素浓度 Eu/ml	普鲁卡因含量(%)				
	2	1	0.5	0.25	0
10	-	+	+	+	+
1	-	-	+	+	+

由表1可见, 1Eu/ml的内毒素与鲎试剂的凝集反应可被>0.5%的普鲁卡因所抑制; 10Eu/ml的内毒素可被>1%的普鲁卡因所抑制, 结果表明普鲁卡因抑制鲎试验凝集反应与其浓度有关。

二、双向超滤法内毒素回收试验

取超纯水200ml加内毒素100Eu, 按双向超滤法处理, 分次收集反向超滤液, 进行内毒素定量检测, 3次试验结果见表2。

表2 细菌内毒素双向超滤回收试验结果

反向超滤	反向超滤液稀释倍数						内毒素 测得量 (Eu)
	X1	X5	X10	X15	X20	X25	
第1个100ml	+	+	+	+	+	-	1000
第2个100ml	-	-	-	-	-	-	≤ 50

表2结果表明, 反向超滤100ml已可以完全回收所加内毒素量。

三、加样回收率

取经双向超滤处理后检测为阴性的同批号2%普鲁卡因注射液, 分别加入100、200、400、800Eu的内毒素, 按双向超滤法处理后, 测定内毒素含量, 结果见表3。

表3结果表明, 用本法测定普鲁卡因注射液中热原, 内毒素加样回收率为100%。

四、样品检测结果

用本法检测12个批号的本院自制1%~2%普鲁卡因注射液, 结果均为阴性; 兔法

表3 大肠杆菌内毒素加样回收率

内毒素加入量 (Eu/100ml)	100ml 反向超滤 液倍比稀释测定						内毒素 测得量 (Eu)
	X1	X2	X4	X8	X16	X32	
100	+	+	-	-	-	-	100
200	+	+	+	-	-	-	200
400	+	+	+	+	-	-	400
800	+	+	+	+	+	-	800

对照检查为阴性, 临床应用申未见一例热原反应发生。

讨 论

1. 双向超滤法使用的空心纤维型透析器由8000~15000根空心毛细管形透析膜构成, 膜孔径平均0.3 μ m, 故只允许分子量大约15000以下的小分子和部分中分子物质通过, 而分子量大于35000的大分子物质不能通过。⁽⁴⁾热原是革兰氏阴性菌细胞壁的内毒素, 它的化学结构是一种脂多糖⁽⁵⁾, 其分子量一般在 10×10^6 左右⁽⁶⁾, 故不能通过透析膜。该型透析器体积小, 重量轻, 超滤率高, 使用方便, 并可反复使用。复用透析器可用醋酸洗必泰溶液(0.2~0.05%)灌注消毒后, 于冰箱内保存备用, 可有效地防止热原污染。

2. 透析器内侧一般可残留25ml以下的未超滤液, 故实验中应考虑其对反向超滤液中药物残留量的影响, 欲使药物残留量减小, 可增大超滤体积或反复进行超滤, 反向超滤。

3. 本法以蒸馏水(鲎试验阳性)反向超滤液作阴性对照; 可检查透析膜是否破裂

及透析器内侧是否污染内毒素。阴性对照为阴性时, 试验无效, 应查明原因后重新检查。

4. 本法回收试验表明; 透析膜对内毒素的吸附作用小, 可能是反冲作用的结果; 反向超滤可使由于正向超滤而吸附在膜微孔上的内毒素, 在反冲力的作用下被冲洗下来。注射液与透析器连接管道可选用一次性输液器, 其内壁光滑对内毒素吸附作用小⁽⁷⁾。

5. 目前解决检品对鲎试剂抑制作用的方法, 多采用稀释方法⁽⁵⁾, 稀释可克服抑制作用, 但同时也降低了检品中内毒素浓度, 使检测灵敏度下降。应用本法可克服稀释方法的缺点, 并可通过增大超滤样品体积, 减小反向超滤量的方法, 对样品中内毒素进行浓缩, 增加检出敏感度, 适用于大型输液及特殊途径给药制剂中内毒素的检测。

参 考 文 献

1. 中国人民解放军总后勤部卫生部编: 中国人民解放军药品制剂规范, 一九八五版, 人民军医出版社, 1987: 216。
2. 中国卫生部部标准(试行)WS₁-288(Y-47)~88, 1988。
3. 中国药典二部, 附录, 1990: 106
4. 于宗周: 现代血液净化疗法 第1版, 湖北科学技术出版社, 1986: 1
5. 周海钧: 药学通报 1988; 23(5): 275
6. 沈阳药学院主编: 药剂学 人民卫生出版社第1版 1986: 114
7. 袁惠德等: 药物分析杂志 1990; 10(5): 306。

· 书 讯 ·

《中 药 师 手 册 》 出 版

《中药师手册》是我国目前第一部全面系统地介绍中药专业基础知识的综合性工具书。全书分上下两册, 上册包括中药化学、中药药剂、中药鉴定基础、中药药理、药用植物、临床实用中药、中药炮制、中药方剂等中药专业基础理论。下册包括药政管理、药品检验、中药显微鉴定技术、中药的中毒与急救、中药保管技术、中药文献查阅指南、药性计算、常用数据、中国基本中成药、中药材资源分布、中药鉴定术语解释、中药异名等中药应用技术和有关知识。本书特点是内容丰富、知识准确、条目清晰、资料具体、行文简明、实用性强、有法定依据。

本书的出版, 将为中药生产、经营、医疗、药政、药检、教学、科研以及邻近学科广大科技人员的学习、工作、研究提供方便, 是一本人手必备的工具书。

《中药师手册》全书约130万字, 近200幅插图, 16开本, 塑膜封面。定价18.50元一套(含邮费20元一套), 已由黑龙江科技出版社出版。尚有部分余书, 欢迎邮购。

邮购者请直接汇款至: 黑龙江省齐齐哈尔市药品检验所办证收(邮政编码161006)信汇: 齐齐哈尔市药品检验所; 开户行: 工商银行建华办; 帐号: 08809061-47。款到马上寄书。