

### 3 讨论

以上实验结果证明,克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液对细菌内毒素检查无干扰作用,说明该注射液用细菌内毒素检查法控制内毒素限量是可行的,可以在日常产品检验中代替热原检查。在进行细菌内毒素检查时可选用 $\lambda \leq 0.25$  EU/mL 鲎试剂,并对样品按 MVD 进行稀释,依法进行试验,即可保证所检测的样品中细菌内毒素的含量小于 0.5 EU/mL,从

而能够保证临床用药安全,避免热原反应。

#### 参考文献:

- [1] 国家药品监督管理局标准(试行). WS-688(X)-596(-2000)克林霉素磷酸酯葡萄糖注射液[S].
- [2] 中国药典. 2000 年版. 二部[S]. 附录, 2000: 86, 87, 204.
- [3] 黄清泉, 夏振民. 药品细菌内毒素检查的实验设计[J]. 中国药学杂志, 1997, 32(2): 72.

收稿日期: 2003-07-22

## 己酮可可碱葡萄糖注射液内毒素检测法探讨

黄能明, 李应锐(武警海南省总队医院, 海南 海口 570203)

**摘要** 目的: 探讨细菌内毒素法对己酮可可碱葡萄糖注射液进行检测的可行性。方法: 按照《中国药典》2000 版收载的细菌内毒素检查法的要求进行干扰试验。结果: 将己酮可可碱葡萄糖注射液稀释 2 倍后对鲎试剂凝集反应没有干扰作用, 用标示灵敏度为 0.25EU/mL 的鲎试剂检测细菌内毒素是有效的。结论: 细菌内毒素法可用于己酮可可碱葡萄糖注射液的检测, 控制其质量。

**关键词** 己酮可可碱葡萄糖注射液; 细菌内毒素检查法; 鲎试剂

中图分类号: R944.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2004)01-0024-02

### Study on BET in pentoxifylline glucose injection

HUANG Neng-ming, LI Ying-rui (Hainan Provincial Corps Hospital, Chinese People's Armed Polices Forces, Haikou 570203, China)

**ABSTRACT Objective:** To study the feasibility of bacterial endotoxin test (BET) for the pentoxifylline glucose injection. **Methods:** The interference test was conducted with reference to Chinese Pharmacopoeia(2000ed) on BET. **Results:** The tachypleus amebocyte lysate has no interfered by the pentoxifylline glucose injection diluted 2 times in the coagulate reaction, so it is valid to use the sensitivity of TAL 0.25EU/mL to test bacterial endotoxin. **Conclusion:** The bacterial endotoxin test(BET) can be used as quality control of the pentoxifylline glucose injection.

**KEY WORDS** pentoxifylline glucose injection; bacterial endotoxin test; tachypleus amebocyte lysate

细菌内毒素法(BET)具有快速、简便、专一、灵敏、可短时间内做大量试验的特点,已被世界许多国家药典<sup>[1,2]</sup>收载,试剂与内毒素反应是十分复杂的酶促反应,易受干扰而出现假阳性或假阴性结果。己酮可可碱葡萄糖注射液临床上主要用于治疗脑血管障碍及血管性头痛等疾病。试用此法对己酮可可碱葡萄糖注射液检测,结果满意,现报道如下:

#### 1 实验材料

鲎试剂(批号: 0109281, 规格: 0.1mL/支, 灵敏度 $\lambda = 0.25$ EU/mL, 湛江安度斯生物有限公司);

作者简介: 黄能明(1969), 男, 学士, 主管药师. Tel: (0898) 65343033-37165; E-mail: huangnm@163.com

细菌内毒素检查用水(批号 0110090, 规格 5mL/支, 内毒素含量 $< 0.003$  EU/mL, 湛江安度斯生物有限公司); 细菌内毒素工作标准品(批号: 2001-3, 规格 70EU/支, 中国生物制品检定所); 己酮可可碱葡萄糖注射液(批号: 020423, 0207032, 021101, 规格: 0.2g, 250mL/瓶, 山东天福制药厂), 3批均系兔法热原检查合格品。实验所用试管、器皿均按中国药典 2000 版除细菌内毒素处理。

#### 2 最大有效稀释倍数的确定

按规定的给药途径, 临床无不良反应的内毒素阈剂量为 K, 注射剂的 K 值为 5EU/kg。己酮可可碱葡萄糖注射液热原检查时家兔剂量 M 值为 10mL/kg<sup>[4]</sup>, 计算药品的细菌内毒素限值 L 为 K/M

= 0.5EU/mL。最大有效稀释倍数  $MVD = L/\lambda = 0.5/0.25 = 2$ 。所以要使用细菌内毒素检查法,己酮可可碱葡萄糖注射液需稀释2倍,干扰实验合格后方可进行。

### 3 方法与结果

**3.1 鲎试剂灵敏度的复核** 取内毒素工作品(70EU/支)1支,加入1mL的细菌内毒素检查用水溶解,漩涡混匀。取0.1mL加细菌内毒素检查用水0.9mL 漩涡混匀,从此稀释液中取0.1mL加细菌内毒素检查用水0.6mL混匀,得1EU/mL,再分别制成2.0、1.0、0.5、0.25 $\lambda$ 个浓度的内毒素标准溶液。

各取上述4种浓度溶液0.1mL分别加入4支0.1mL的鲎试剂中,漩涡混匀,每个浓度平行做4支,置(37 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C下水浴(60 $\pm$ 2)min,同时用细菌内毒素检查用水做2支阴性对照,结果见表1。

表1 鲎试剂灵敏度复核实验结果

管号	内毒素浓度(EU/mL)				阴性对照
	0.5	0.25	0.125	0.0625	
1	+	+	-	-	-
2	+	+	-	-	-
3	+	+	-	-	-
4	+	+	-	-	-

鲎试剂灵敏度的测定值  $\lambda_c = \log^{-1}(\sum x/4) = 0.25EU/mL$ ( $x$ 为4支管反应终点内毒素浓度的对数值),在0.0625~0.5EU/mL范围内,实验结果有效,可用于药品的细菌内毒素检测。

**3.2 内毒素检查用水的质量考察** 实验中使用的内毒素检查用水(内毒素含量<0.003EU/mL)经检查,在(37 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C恒温水浴中放置4h,未与鲎试剂产生凝集反应,符合规定。

**3.3 供试品干扰实验** 分别用己酮可可碱葡萄糖注射液的2倍稀释液和细菌内毒素检查用水作溶媒将细菌内毒素工作标准品制成浓度为0.5、0.25、0.125、0.0625EU/mL的溶液,然后照鲎试剂灵敏度复核的步骤进行干扰实验,每一浓度平行做4支,另取细菌内毒素检查用水和供试品2倍稀释液各做2支阴性对照组。实验结果见表2。

实验测得灵敏度 $\lambda$ 均在2~0.5 $\lambda_c$ 范围内,符合

药典的规定,表明样品经2倍稀释后对细菌内毒素实验无干扰作用。

表2 样品2倍稀释液干扰实验结果

样品	细菌内毒素浓度(EU/mL)				阴性灵敏度 $\lambda_c$ 对照(EU/mL)
	0.5	0.25	0.125	0.0625	
020423	++++	++--	----	----	0.3536
0207032	++++	++++	++--	----	0.1768
021101	++++	+++-	----	----	0.2973

表3 样品细菌内毒素法检测结果

供试品(批号)	管号		阳性对照		阴性对照
	1	2	(1)	(2)	
020423	-	-	+	+	-
0207032	-	-	+	+	-
021101	-	-	+	+	-

**3.4 供试品的细菌内毒素检测** 取装有0.1mL的鲎试剂5支,按《中国药典》2000年版规定的药品细菌内毒素检测方法进行检测,结果见表3。阳性对照(1)为加入0.1mL细菌内毒素检查用水制成2.0 $\lambda$ 浓度的内毒素溶液;阳性对照(2)为加入0.1mL供试品制成2.0 $\lambda$ 浓度的内毒素溶液。结果表明,3批样品经细菌内毒素检查均为合格品,临床使用中亦未出现输液热原反应发生。

### 4 讨论

药品内毒素限值的确定,有助于细菌内毒素检查中选择合适的检测浓度。参考有关资料<sup>[3,4]</sup>,计算出己酮可可碱葡萄糖注射液的细菌内毒素的限值为0.5EU/mL。药典规定,如用细菌内毒素检查用水测的灵敏度值 $\lambda_c$ 在2~0.5 $\lambda$ 时,且有供试品时测得的灵敏度值 $\lambda$ 在0.5~2 $\lambda_c$ 时,认为供试品在该浓度下不干扰实验。实验证明,将供试品经2倍稀释后用细菌内毒素检测不存在有干扰因素,结果准确可靠,快速。此法可以替代热原检查法对己酮可可碱葡萄糖注射液进行检测。

#### 参考文献:

[1] USP. XXIII- NF XVIII[S]. 1995: 1696~ 1697.  
 [2] BP[S]. 1998: A212~ A216.  
 [3] 国家药品监督管理局. 药品标准. WS- 655(X- 570)- 2000.  
 [4] 中国药典2000年版. 二部[S]. 附录, 2000: 85, 86, 46.