

硫酸小诺霉素注射液细菌内毒素检测方法的实验研究

万海萍(兰州 730000 兰州铁路局中心医院红山根分院)

硫酸小诺霉素注射液为氨基糖苷类抗生素,部标准热原检查采用家兔法。家兔法不足在于生物差异大,检测费时,价格昂贵,劳动强度大。而鲎试验法用于药品细菌内毒素检测,具有操作简单,灵敏度高,重现性好,实用性强,费用低等优点。本文对硫酸小诺霉素注射液进行了细菌内毒素检测方法的实验研究,结果硫酸小诺霉素对鲎试验法检测细菌内毒素有干扰作用,但通过稀释供试品,可排除干扰。该法取得了满意的效果。

1 仪器与试剂

电热恒温水浴锅(山西省文水医疗器械厂);旋涡混合器(上海亚荣生化仪器厂);鲎试剂(灵敏度为 0.5Eu/ml,0.5ml/支,批号:971029);细菌内毒素工作标准品(10Eu/支,批号:971020);超纯水(2ml/支)均系厦门

鲎试剂厂产品;家兔(由定西药检所实验动物房提供);硫酸小诺霉素注射液系定西药检所留样检品,经家兔热原检查,均符合规定。实验所用玻璃器皿均 180℃ 干烤 2h 以上。

2 方法与结果

2.1 鲎试剂灵敏度复核。按中国药典 1995 年版二部附录 XI E 细菌内毒素检查法规定,对实验所用鲎试剂的灵敏度进行复核,结果与标示灵敏度一致,即 λ_c 为 0.5Eu/ml。

2.2 供试品细菌内毒素限值及最大有效稀释倍数的确定。根据国内细菌内毒素限值 $L = kM^{[1]}$,K 为细菌内毒素的致热阈,为 5Eu/kg,M 为热原检查剂量,部标准规定,将不同规格的硫酸小诺霉素注射液加灭菌生理盐水制成每 1ml 中含 10000 单位的溶液后,按家兔体

重每 1kg 注射 1ml^[2],本文以规格为 1ml:30000 单位硫酸小诺霉素注射液为样品,则 M 为 1/3ml/kg,故: $L = K/M = 15\text{Eu/ml}$ 。供试品最大有效稀释倍数 $D = L/\lambda_6^{[3]}$ = 30 倍。

2.3 供试品的干扰试验。取经家兔法检查热原符合规定的硫酸小诺霉素注射液,用超纯水稀释:A(原液)、B(1→2);C(1→4)及超纯水 D,再用 A、B、C、D 溶解细菌内毒素工作标准品并稀释成每 1ml 中含细菌内毒素为 1.0,0.5,0.25 和 0.125Eu 的系列浓度,每一浓度分别取 0.1ml,加鲎试剂 0.1ml,每组 4 管,同时各组做阴性对照,依法试验^[3]。另取 2 批家兔法热原检查符合规定的硫酸小诺霉素注射液重复上述试验。结果表明,硫酸小诺霉素注射液对鲎试验法有干扰作用,但经稀释(1→4)可消除干扰。

2.4 样品细菌内毒素检查。取家兔法热原检查符合规定的硫酸小诺霉素注射液 16 批次,1→4 稀释后,用灵敏度为 0.5Eu/ml 的鲎试剂检查细菌内毒素^[3],结果均为阴性,与家兔法检验结果完全相符。另用样品液(1→4)将细菌内毒素工作标准品稀释成 0.5Eu/ml 做对照,结果为阳性。

3 讨论

3.1 干扰试验结果表明,硫酸小诺霉素注射液对细菌内毒素的检测有干扰作用,但经稀释(1→4)后,可消除干扰。在有效浓度范围内,本品经稀释适用于鲎试验法检查细菌内毒素。

3.2 本文对定西药检所 16 批次硫酸小诺霉素注射液留样检品进行了细菌内毒素检查和热原检查两法的比较试验,结果符合率 100%,说明用鲎试验法对硫酸小诺霉素注射液进行细菌内毒素检查是可行的。

3.3 按文献报道^[1]及本文研究结果,硫酸小诺霉素注射液的细菌内毒素应规定为:取本品,用适当灵敏度的鲎试剂依法检查,规格为 1ml:30000 单位、2ml:60000 单位的硫酸小诺霉素注射液中含细菌内毒素应不得过 15Eu/ml;规格为 2ml:80000 单位的硫酸小诺霉素注射液中含细菌内毒素应不得过 20Eu/ml。

参考文献

- 1 夏振民. 药品细菌内毒素检查的限值. 药物分析杂志, 1995, 15(3):54.
- 2 中华人民共和国卫生部标准(试行)WS1-212-87.
- 3 中国药典. 二部, 1995:附录 76.