

# 大蒜注射剂的细菌内毒素检查

罗 勤 郑 萍 李 竹(广州 510515 第一军医大学附属南方医院药学部)

**摘要** 目的:考察大蒜注射剂内毒素的鲎试剂检查法。方法:通过增强/抑制试验,经过最大有效稀释后,可消除大蒜注射剂对鲎试剂的干扰。结果:大蒜注射剂经过 20 倍稀释后,可选用灵敏度为 0.125 Eu/ml 的鲎试剂对其进行内毒素检测,并用家兔热原检查法进行对照试验,结果一致。结论:大蒜注射剂的热原试验可以由内毒素检查法取代。

关键词 大蒜注射剂;鲎试剂;内毒素检测

The bacterial endotoxins test of garlicin injection

Luo Qin( Luo Q) ,Zheng Ping( Zheng P) ,Li Zhu( Li Z) ( Pharmacology Department of Nanfang Hospital of The First Military Medical University ,Guangzhou 510515)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:**To study the bacterial endotoxins test of garlicin injection using limulus lysate agent . **METHOD:** To find the maximum valid dilution ( MVD) according to inhibition/enhancement test . **RESULTS and CONCLUSION:**When the limulus lysate's sensitivity( $\lambda$ ) is 0.125Eu/ ml,the maximum valid dilution is 1: 20 .The result of bacterial endotoxins test is the same as that of pyrogen test with healthy mature rabbits . **KEY WORDS** garlicin injection ,lymulus lysate agent ,bacterial endotoxins test

大蒜注射剂( Garlicin injection)系由百合科植物蒜( Allium sativum L)经蒸馏提取而制得的抗真菌药物。以其抗真菌特别是抗深部真菌感染效果良好、价格低廉、毒副作用少而越来越受到医生患者的重视。按其制剂标准<sup>[1]</sup>,该制剂需经家兔之热原试验合格后方可使用于临床。我们利用鲎试剂与细菌内毒素的凝集反应,通过与兔法的对照实验,探讨了大蒜注射剂应用鲎试剂进行细菌内毒素检测的可能性。现予报导。

1 实验材料

大蒜注射剂(本院生产制剂,批号:981022,980422,970722,970812和981106,按95版药典经家兔热原实验符合规定,并在临床应用中未发现热原反应,实验数据略)。

细菌内毒素工作标准品(批号:980325,规格:10Eu/支,厦门鲎试剂厂)。鲎试剂(批号:980327,灵敏度分别为:0.25Eu/ ml,0.125Eu/ ml,厦门鲎试剂厂)。细菌内毒素检查用水(厦门鲎试剂厂)。家兔(符合热原实验之规定)。小试管、注射器(经除热原处理)。恒温水浴锅,震荡器。

2 实验方法与结果

2.1 鲎试剂灵敏度( $\lambda$ )的复核

参照中国药典<sup>[1]</sup>,对各种规格的鲎试剂进行复核,结果与标示灵敏度相同。

2.2 样品的干扰实验

**2.2.1 细菌内毒素限值的确定** 按规定,在大蒜注射剂的热原试验中,家兔的注射剂量(M)为2ml/kg,我们认为细菌内毒素的阈值 $K=5\text{Eu/kg}$ <sup>[2]</sup>,因此对大蒜注射剂而言,其细菌内毒素理论限值 $L=K/M=5/2=2.5\text{Eu/ml}$ 。

**2.2.2 样品最大有效稀释倍数( Maximum Valid Dilution, MVD)** 按公式 $L/\lambda$ 计算,当选用灵敏度( $\lambda$ )为

0.25Eu/ ml的鲎试剂时,供试品的MVD为10倍,故用内毒素检查用水将大蒜注射剂稀释为1:1,1:5,1:10,1:20,1:40和1:80的系列溶液,分别取0.1ml与灵敏度为0.25Eu/ ml的鲎试剂0.1ml(注:用细菌内毒素检查用水复溶)按药典规定进行反应,结果见表1。

表1 样品对鲎试剂的增强试验

| 鲎试剂                        | 样品批号   | 样品稀释倍数 |     |      |      |      |      |
|----------------------------|--------|--------|-----|------|------|------|------|
|                            |        | 1:1    | 1:5 | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 |
| $\lambda=0.25\text{Eu/ml}$ | 980327 | +      | +   | -    | -    | -    | -    |
|                            | 970422 | -      | -   | -    | -    | -    | -    |
|                            | 970722 | -      | -   | -    | -    | -    | -    |
|                            | 970812 | -      | -   | -    | -    | -    | -    |
|                            | 981106 | -      | -   | -    | -    | -    | -    |

**2.2.3** 在2.2制得的样品稀释后的系列溶液中,按批号分别取0.1ml复溶灵敏度为0.25Eu/ ml的鲎试剂。

**2.2.4** 用细菌内毒素检查用水将内毒素稀释成0.5Eu/ ml,分别取0.1ml与2.3中复溶后的鲎试剂按药典规定<sup>[1]</sup>进行试验,结果见表2。

表2 样品对鲎试剂的抑制试验

| 鲎试剂                        | 内毒素浓度       | 样品批号   | 样品稀释倍数 |     |      |      |      |      |
|----------------------------|-------------|--------|--------|-----|------|------|------|------|
|                            |             |        | 1:1    | 1:5 | 1:10 | 1:20 | 1:40 | 1:80 |
| 980327                     | 2 $\lambda$ | 981022 | +      | +   | +    | +    | +    | +    |
| $\lambda=0.25\text{Eu/ml}$ | (0.5Eu/ ml) | 970722 | -      | -   | +    | +    | +    | +    |
|                            |             | 970422 | -      | -   | +    | +    | +    | +    |
|                            |             | 970812 | -      | -   | +    | +    | +    | +    |
|                            |             | 981106 | -      | -   | +    | +    | +    | +    |

**2.2.5** 表1、2显示,当大蒜注射剂稀释10倍以后,其对鲎试剂的干扰作用消失,而此时所对应的鲎试剂的灵敏度 $\lambda$ 为0.25Eu/ ml。在以下的试验中,我们将样品稀释20倍,选用灵敏度为0.125Eu/ ml的鲎试剂进行试验。

**2.2.6** 另取5批大蒜注射剂,将其分别稀释10倍,分次复溶灵敏度为0.125Eu/ ml的鲎试剂,同时将内毒素

(10Eu/支)用无热原水稀释成0.5,0.25,0.125,0.06和0.03,按中国药典进行细菌内毒素试验,结果见表3。

表3 有效稀释后样品对鲎试剂灵敏度的干扰试验

| 鲎试剂              | 供试剂<br>批号 | 内毒素浓度 |      |       |      |      | 阴性管 | $\lambda_c$ |
|------------------|-----------|-------|------|-------|------|------|-----|-------------|
|                  |           | 0.5   | 0.25 | 0.125 | 0.06 | 0.03 |     |             |
| 980327           | 981022    | +     | -    | -     | -    | -    | -   | 0.25        |
| $\lambda = 0.25$ | 970422    | +     | -    | -     | -    | -    | -   | 0.25        |
| (Eu/ml)          | 970722    | +     | -    | -     | -    | -    | -   | 0.25        |
|                  | 970812    | +     | -    | -     | -    | -    | -   | 0.25        |
|                  | 981106    | +     | -    | -     | -    | -    | -   | 0.25        |

### 3 结果与讨论

3.1 表2表明,样品对鲎试剂的干扰作用是抑制作用,并随样品浓度的降低而减小,一般情况下,样品稀释20倍以后,其对鲎试剂的干扰作用消失。从表1中可以

得出,5批样品中只有一批其对鲎试剂的干扰作用是增强作用,稀释10倍以后,这种增强作用消失。其它各批样品对鲎试剂均无增强作用。

3.2 表3证明,样品稀释20倍以后,在其干扰试验中, $\lambda_c$ 都在0.5~2 $\lambda$ 之间,按药典规定可以认为样品对鲎试剂的无干扰。

3.3 经过近60批样品的反复验证(数据略),大蒜注射剂经过20倍稀释后,其热原试验可以由内毒素检查法取代,选用的鲎试剂的灵敏度以0.125Eu/ml为宜。建议同时做样品阳性管试验。

### 参考文献

- 1 中国药典.二部.1995:附录76.
- 2 夏振民.细菌内毒素限值.药物分析杂志,1995,15(3):54.

收稿日期:1998-12-21