

注射用磷霉素钠细菌内毒素检查法初探

梁 勇(梧州 543001 广西桂东人民医院)

摘要 目的:建立注射用磷霉素钠的细菌内毒素检查法。方法:根据中国药典 2000 年版二部收载的细菌内毒素检查方法的要求进行实验。结果:样品经稀释后无干扰作用,且与兔法热原检查结果一致。结论:细菌内毒素检查法可用于注射用磷霉素钠热原检查。

关键词 注射用磷霉素钠;细菌内毒素;鲎试剂

A Preliminary study on Bacterial Endotoxin Test for Fosfomycin Sodium for Injection

Liang Yong(Guanxi Guidong People's Hospital , Wuzhou 543001)

ABSTRACT OBJECTIVE:To establish a method of bacterial endotoxin test for fosfomycin sodium for inuection. **METHOD:**Carrying out the bacterial endotoxin test according to the related standard in Chp2000 . Vol . II . **RESULTS:**There was no interference with the bacterial endotoxin test after the sample was diluted . It showed no difference between bacterial endotoxin test and pyrogen test . **CONCLUSION:**It is proved that the bacterial endotoxin test can be used in pyrogen test for fosfomycin sodium for injection . **KEY WORDS** fosfomycin sodium for injection , bacterial endotoxin , limulus ameocyte lysate

鲎试剂用于药品中细菌内毒素的检测具有灵敏度高、操作简便的特点,用细菌内毒素检查法代替兔法来检查药品的热原已被世界许多药典^[1]收载。参照中国药典 2000 年版细

菌内毒素检查法,对注射用磷霉素钠的细菌内毒素进行检测试验,结果与兔法一致,表明细菌内毒素检查法可代替注射用磷霉素钠热原检查。

1 材料

鲎试剂(A)(批号 991112 ,标示灵敏度 0.25Eu• ml⁻¹ ,规格 0.1 ml/ 支,厦门鲎试剂厂) ;鲎试剂(B)(批号 990324 ,标示灵敏度 0.25Eu• ml⁻¹ ,规格 0.1 ml/ 支) ,细菌内毒素工作标准品(冻干,批号 990528 ,10Eu/ 支) ,细菌内毒素检查用水(内毒素含量 <0.015Eu• ml⁻¹ ,批号 990929 ,以下简称 BET 水) 均为湛江安度斯生物有限公司 ;注射用磷霉素钠(规格 2 × 10⁶u/ 支,批号 001002 ,001101 ,001102 ,山西大同第二制药厂) 。

2 方法与结果

2.1 鲎试剂灵敏度复核^[2] 取内毒素工作标准品(10Eu• ml⁻¹)1 支,加 1.0ml BET 水,旋涡混匀,得 10Eu• ml⁻¹ ;然后再取 0.1 ml 加 BET 水 1.9ml 旋涡混匀,得 0.5Eu• ml⁻¹ ,然后按比例递次稀释为含内毒素 0.5 ,0.25 ,0.125 ,0.0625Eu• ml⁻¹ 。取鲎试剂 4 支,分别用 0.1 ml BET 水溶解后,将上述浓度稀释液各取 0.1 ml 分别加入 4 支鲎试剂中(每个浓度做 4 支) ,同时以 BET 水做 2 支阴性对照管,旋涡混匀,置(37 ±1) °C 下水浴(60 ±2) min,结果见表 1 。

两组鲎试剂测定值 λ_c =lg⁻¹(Σx/ 4) = 0.25Eu• ml⁻¹ ,测定

表 2 干扰试验结果

样品	样品浓度	内毒素浓度 Eu• ml ⁻¹				阴性对照	灵敏度(Et) Eu• ml ⁻¹
	u• ml ⁻¹	0.5	0.25	0.125	0.0625		
001002	1.4 × 10 ⁴	++++	++++	++++	----	--	0.125
	7 × 10 ³	++++	++++	++--	----	--	0.176
	3.5 × 10 ³	++++	++--	----	----	--	0.353
001101	1.4 × 10 ⁴	++++	++++	++++	----	--	0.125
	7 × 10 ³	++++	++++	++--	----	--	0.176
	3.5 × 10 ³	++++	++--	----	----	--	0.353
001102	1.4 × 10 ⁴	++++	++++	++++	----	--	0.125
	7 × 10 ³	++++	++++	++--	----	--	0.176
	3.5 × 10 ³	++++	++--	----	----	--	0.353

样品稀释浓度 1.4 × 10⁴ ,7 × 10³ ,3.5 × 10³u• ml⁻¹ 稀释液测得鲎试剂灵敏度(Et) 在 0.5 ~ 2λ_c(0.125 ~ 0.5Eu• ml⁻¹) 之间,符合药典规定,说明样品稀释浓度 1.4 × 10⁴ ,7 × 10³ ,3.5 × 10³u• ml⁻¹ 稀释液对试验均无干扰作用。

2.4 样品的检测

2.4.1 细菌内毒素检测 将 3 批样品用 BET 水稀释至有效浓度 4 × 10³u• ml⁻¹ 的溶液,用此浓度将细菌内毒素工作标准品稀释为 2λ_c 溶液,作为供试品阳性对照,进行细菌内毒素检测,结果见表 3 。

表 3 样品细菌内毒素检测结果

样品	供试管	阳性对照管	供试品阳性对照管	阴性管
001002	-	+	++	-
001101	-	+	++	-
001102	-	+	++	-

2.4.2 热原检查 按中国药典 2000 年版热原检查法检查,

值与标示值一致。

表 1 鲎试剂灵敏度复核试验

鲎试剂	内毒素浓度 Eu• ml ⁻¹				阴性对照
	0.5	0.25	0.125	0.0625	
A	++++	++++	----	----	--
B	++++	++++	----	----	--

2.2 样品细菌内毒素限值(L) 及最小有效浓度(MVC) 的确定 中国药典 2000 年版^[3]规定本品热原检查浓度 c = 7 × 10⁴u• ml⁻¹ ,剂量(M) 按家兔体重每 1kg 注射 1ml ,内毒素对家兔致热阈 K = 5Eu• kg⁻¹^[4] 。根据公式 L = K/ M,计算 L = 7.14 × 10⁻⁵Eu• u⁻¹ ;注射用磷霉素钠最小有效浓度 : MVC = λ₀/ L = 3.5 × 10³u• ml⁻¹ ,λ₀ 为鲎试剂灵敏度标示值 0.25Eu• ml⁻¹ 。

2.3 干扰试验 用 BET 水将 3 批注射用磷霉素钠分别稀释为 1.4 × 10⁴ ,7 × 10³ ,3.5 × 10³u• ml⁻¹ 的系列溶液,用上述稀释液分别将细菌内毒素工作标准品稀释为含内毒素 0.5 ,0.25 ,0.125 ,0.0625Eu• ml⁻¹ 的溶液,然后按鲎试剂灵敏度的复核的操作步骤进行干扰试验, A、B 两组鲎试剂试验结果一致,结果见表 2 。

3 批样品均合格。

3 小结

样品最小有效浓度 MVC 为 3.5 × 10³u• ml⁻¹ ,因而选择 4 × 10³u• ml⁻¹ 为试验浓度。干扰试验表明,将注射用磷霉素钠经适当稀释后,对标示灵敏度为 0.25Eu• ml⁻¹ 的鲎试剂无干扰作用。因此,细菌内毒素检查法可代替注射用磷霉素钠的热原检查,且此法较兔法简便、快捷、实用性强。

参考文献

1 usp.23 版.891 .
2 中国药典.2000 年版二部.附录:86 .
3 中国药典.二部.2000 :1077 .
4 夏振民.药品细菌内毒素检测限值.药物分析杂志,1995 ,15 (3) :54 .

收稿日期:2001 - 04 - 18