

鲎试验法检测化学类药品细菌内毒素

霍启录¹, 邵红霞² (1. 第一军医大学南方医院药学部, 广州 510515; 2. 中医系)

1968 年 Levin J 发现鲎试验法, 并于 1971 年由 Cooper JF 首先建立标准的鲎试验以来, 因其灵敏度高, 设备简单, 操作方便, 结果快速等优点, 已被大多数国家广泛应用, 并正在逐步替代传统的家兔法检测热原。在 70 年代初期, 我国学者对鲎试验法开始了研究, 并在 1991 年卫生部部颁标准首次收摘了细菌内毒素检查法, 用于放射性药品和 5 种大输液的热原检查; 中国药典(1995 年版)正式收摘该法, 并作为 15 种药品细菌内毒素检查的依据, 同时删除了该品种的热原检查项; 2000 年版中国药典增加到 47 个品种, 并且增加了细菌内毒素检查法应用指导原则^[1~3]。化学类药是一类非常庞大的药物, 数量、品种多, 临床应用广泛, 在热原/细菌内毒素检测中占有较大比例。利用鲎试验法检测化学类药品细菌内毒素时, 发现化学类药品对鲎试验法存在的干扰因素, 多可用稀释的方法消除。利用鲎试验法对该类药品的研究较多, 本实验对我国利用鲎试验法检测化学类药品细菌内毒素的情况进行综述, 旨在对我国用鲎试验法检测化学类药品细菌内毒素的现状进行分析评价。

1 甲硝唑注射液

霍启录等^[4~6]实验研究显示, 甲硝唑注射液对鲎试验法有干扰, 其抑制/增强系数为 8, 其 1→2 和 1→4 稀释液的抑制/增强系数为 2.5; 姚治等^[7]经过动态浊度法研究也证实了该结果。该品种经 1 倍稀释后可用 0.5 Eu/mL 的鲎试剂直接测定。

2 甲硝唑葡萄糖注射液

李卓等^[8]研究认为, 该药品对鲎试验法有干扰作用, 其 1:4 稀释可消除干扰, 用 0.25 Eu/mL 的鲎试剂可以直接测定。

3 替硝唑葡萄糖注射液

郭录平等^[9~11]认为, 用灵敏度为 0.5 Eu/mL 的鲎试剂检测时, 替硝唑葡萄糖注射液对鲎试验法无干扰, 其细菌内毒素限值应低于 0.5 Eu/mL, 可用鲎试验法直接测定; 李菱玲等^[10, 12, 13, 14]认为, 用灵敏度为 0.25 Eu/mL 的鲎试剂检测时, 原液对鲎试验法有干扰, 经 3 或 6 倍稀释可消除干扰, 该品种最大无干扰浓度为 1→2 稀释, 最佳检测条件为 1→4 稀释, 用灵敏度为 0.125 Eu/mL 的鲎试剂效果最佳, 细菌内毒

素限值应低于 0.5 Eu/mL。

4 甘露醇注射液(20%)

陈敏等^[15~20]认为, 用不同灵敏度(0.5、0.25、0.125、0.0625 Eu/mL)的鲎试剂检测时, 20%甘露醇注射液原液对鲎试验法无干扰, 其鲎试验法检测结果与家兔法一致; 刘莹珍等^[19]认为, 用不同灵敏度(0.5、0.25、0.125 Eu/mL)的鲎试剂进行干扰试验, 发现原液对鲎试验法有干扰, 经 1 倍稀释后干扰消除。霍启录等^[4]经抑制/增强系数测定, 证实 20%甘露醇注射液对鲎试验法无干扰。本作者认为, 20%甘露醇注射液原液对鲎试验法时有干扰的原因是与甘露醇注射液的配制情况及其 pH 值有关。

5 葡萄糖甘露醇注射液

张兵等^[21]认为, 含 15%甘露醇 10%葡萄糖的甘露醇葡萄糖注射液对鲎试验法无干扰, 可用 0.5 Eu/mL 的鲎试剂直接测定。

6 乳酸钠注射液

宋建华等^[22~24]认为乳酸钠葡萄糖注射液和复方乳酸钠注射液对鲎试验法无干扰, 用灵敏度为 0.5 Eu/mL 的鲎试剂可以直接测定其内毒素, 细菌内毒素限值应低于 0.5 Eu/mL。

7 甘油注射液

尹一子等^[25]认为, 10%甘油注射液在 pH 值为 6~7 和 10~11 范围内, 检测灵敏度高, 对鲎试验法无干扰, 但 pH<3 时, 测定效果差。

8 碳酸氢钠注射液

陈国锐等^[26~27]认为用不含细菌内毒素的浓盐酸溶液(浓盐酸:水=5:100)与等体积碳酸氢钠注射液混合, 可排除其抑制作用。

9 复方醋酸钠注射液

柳涌等^[28]认为, 复方醋酸钠注射液对鲎试验法有轻微抑制作用, 经 2 倍稀释后可消除; 杨琳等^[29]也证实, 用灵敏度为 0.5、0.25、0.125 Eu/mL 的鲎试剂, 按其相应的稀释度稀释后, 可直接测定。

10 氯化钾注射液

潘龙珍等^[30~31]认为, 氯化钾注射液对鲎试验法有一定

干扰,经 8~10 倍稀释后,干扰可消除;霍启录等^[32]认为,10%氯化钾注射液对鲎试验法基本无干扰,经测定,其抑制/增强系数为 1.12,可直接测定,并且经与 67 批次的鲎、兔实验分析,认为鲎试验法可直接测定其细菌内毒素。

11 葡萄糖氯化钠注射液

霍启录等^[4,33]证实,含葡萄糖 5%、氯化钠 0.9% 的葡萄糖氯化钠注射液对鲎试验法干扰,不需稀释,可直接测定。

12 泛影葡胺注射液

罗琳等^[34]证实,将泛影葡胺注射液稀释 4 倍,干扰作用消除,可用市售鲎试剂可以直接测定其细菌内毒素。

13 氨苯甲酸注射液

肖大立等^[35]实验表明,氨苯甲酸注射液经 1:8 稀释,可消除氨苯甲酸注射液对鲎试验法的抑制作用,用灵敏度为 0.125 Eu/mL 的鲎试剂可直接测定。

14 磷甲酸钠注射液

韩晋等^[36]将磷甲酸钠注射液做 1:10 稀释后,干扰消除,并建立了磷甲酸钠注射液的鲎试验测定法。

15 硫酸镁注射液

张宏等^[37]参照 USA XX I II (1995) 与 Ch. P. (1995),设定供试品细菌内毒素限值为 5Eu/mL,将供试品做 1→10 稀释后,用灵敏度为 0.5Eu/mL 的鲎试剂进行干扰实验考察,证实无干扰。

16 异舒吉静脉注射液

吴小斌等^[38]设定异舒吉注射液细菌内毒素限值为 25 Eu/mL 时,1:100 稀释后可消除干扰。

17 氢化可的松注射液

刘彤等^[39]认为,将供试品做 0.4→10 稀释,用灵敏度为 0.5 Eu/mL 的鲎试剂可以直接测定。

18 盐酸普鲁卡因注射液

吴振华等^[40]将 1%盐酸普鲁卡因注射液做 2 倍稀释,干扰消除,用 0.5 Eu/mL 的鲎试剂可以直接测定其细菌内毒素。

19 尼可刹米注射液

刘莉等^[41]将供试品做 40 倍稀释,用灵敏度为 0.25 Eu/mL 的鲎试剂检测,取得满意结果,并建议细菌内毒素限值为 10 Eu/mL。

20 利巴韦林注射液

肖文化等^[42~43]认为,供试品对鲎试验法有干扰,将供试品做 1:50 稀释后,干扰消除,并认为该药品最大不干扰浓度为 2mg/mL。

21 氟康唑注射液

吴晓斌等^[44]实验证实,供试品经 6 倍以上稀释,干扰消除,用灵敏度为 0.5 Eu/mL 的鲎试剂可以直接测定。

22 右旋糖酐 40 葡萄糖注射液

李杨等^[45]通过动态浊度法和凝胶法研究认为,供试品对动态浊度法有干扰,按 1:1 稀释,可将干扰消除,对凝胶法无干扰,可用鲎试验法直接测定,并且建议细菌内毒素限值为 0.5 Eu/mL。

23 乳酸环丙沙星注射液

陈铭军^[46]研究表明,供试品对鲎试验法有干扰,经 1:3.2 稀释,干扰消除,并建议细菌内毒素限值为 1.6 Eu/mL。

24 葡萄糖注射液

霍启录等^[4,47]建立了 20%、25%、50% 葡萄糖注射液细菌内毒素检测方法。认为该 3 种规格的葡萄糖注射液对鲎试验法有干扰,但经 1→2 稀释后,干扰消除。稀释液可用鲎试验法直接测定。

问题与评价

本实验综述了我国用鲎试验法检测化学类药品细菌内毒素的研究现状,根据对笔者现有资料的研究认为,我国鲎试验法的研究情况整体是好的,其研究水平也是比较高的。根据综述现有材料认为,我国对利用鲎试验法检测药品细菌内毒素的研究队伍多存在于医院、药厂等一线工作人员,所用仪器设备简单,多采用凝胶试管法,并且各个实验室的研究水平和对实验条件的控制有差异,操作水平也存在差异,虽然可以满足 BET 法的要求,但是实验室的条件却无法统一,有些是严格按照 BET 法的要求,配备足够的实验设备,将实验条件严格控制,而有些实验室却是缺少必要的配套设备,只能因地制宜。根据笔者的了解,有些实验室甚至在不同季节,其试验结果也会出现不同;甚至同一批原料,不同的配制日期,其鲎试验法的检测结果也有不同,究其原因,是因为实验室环境,样品的 pH 值等不同所致。因此,笔者认为,鲎试验法的扩大应用,并不仅仅是一线研究工作人员的事情,而是应当有实力较强的科研院所等参加,并且要规范实验条件,有评价实验的依据,如此才能够增加实验的重复性,达到实验的目的。

参考文献

- [1] 中华人民共和国卫生部国家标准(药典颁布)颁布件.[91]卫药标字 03 号. 中华人民共和国卫生部. 1991. 7.
- [2] 中国药典(二部)[M]. 北京:化学工业出版社,1985.
- [3] 中国药典(二部)[M]. 北京:化学工业出版社,2000.
- [4] 抑制/增强系数鲎试验法检查注射液细菌内毒素. 中国药房, 1994,5(2):28~29.
- [5] 孙金平,杨易,熊鹰. 甲硝唑注射液的细菌内毒素检测实验. 药学实践杂志,1995,13(5)300.
- [6] 周波. 鲎试验法检测甲硝唑注射液热原的研究. 广东药学院学报. 1996,12(2):91.
- [7] 姚治. 动态浊度法检测甲硝唑注射液细菌内毒素的可行性研究. 西北药学杂志. 2000,15(1):25.
- [8] 李卓,肖美珍. 鲎试验检测甲硝唑葡萄糖注射液热原的实验观察. 衡阳医学院学报,2000,28(4):390.
- [9] 郭录平,张长龙. 替硝唑葡萄糖注射液中细菌内毒素检查法初探. 药物分析杂志,1999,19(s:s):54.
- [10] 李菱玲,敖利. 替硝唑葡萄糖注射液中细菌内毒素检查法实验研究. 药物分析杂志,1999,19(s:s):67.
- [11] 白在贤,刁景丽. 弃 G 因子鲎试剂进行替硝唑葡萄糖注射液中的细菌内毒素检查. 中国医院药学杂志,1999,19(7):414.
- [12] 魏素仔,刘晓箭,黄荔红. 替硝唑 G 注射液细菌内毒素检查法

- 研究. 海峡药学, 1998, 10(2): 31.
- [13] 拓学军, 赵语, 徐富培. 鲎试剂检测替硝唑葡萄糖注射液细菌内毒素可行性考察. 中国药房, 1998, 9(5): 228.
- [14] 方湘雄, 文绍荣. 替硝唑葡萄糖注射液中细菌内毒素检查. 中国药业, 1999, 8(3): 29.
- [15] 陈敏, 陈坚. 细菌内毒素法检测甘露醇注射液热原的可行性探讨. 安徽医科大学学报, 1996, 31(6): 518.
- [16] 茅志安. 鲎法检测 20% 甘露醇注射液细菌内毒素之我见. 药学实践杂志, 1995, 13(1): 28.
- [17] 侯庆源, 孙历生, 赵炜. 对一批散在输液反应的甘露醇注射液内毒素定量分析考察. 现代应用药学, 1997, 14(3): 37.
- [18] 熊爱珍, 黄慧娟. 鲎试验法检测 20% 甘露醇注射液热原的探讨. 江西中医学院学报, 1996, 8(4): 42.
- [19] 刘莹珍, 陈光龙. 20% 甘露醇注射液细菌内毒素检查探讨. 广东药学, 1999, 9(1): 33.
- [20] 陈青, 江志论. 鲎试验法对 4 种注射液热原的检查. 青岛大学医学院学报, 1998, (4): 309.
- [21] 张兵. 鲎试剂用于复方甘露醇注射液细菌内毒素检测. 中国药业, 1999, 8(4): 23.
- [22] 宋建华. 鲎试验法测定乳酸钠葡萄糖注射液细菌内毒素. 西北药学杂志, 1999, 14(3): 139.
- [23] 朱岩. 复方乳酸钠注射液 II 号细菌内毒素检查法. 中国临床药理学杂志, 1998, 7(4): 190.
- [24] 于天杰, 吕波. 复方乳酸钠注射液细菌内毒素检测方法考察. 中国医院药理学杂志, 1998, 18(7): 320.
- [25] 尹一子, 王宏, 袁以农. 用鲎试验检测 10% 甘油注射中细菌内毒素的方法. 白求恩医科大学学报, 1997, 23(4): 440.
- [26] 陈国锐, 吴文光. 碳酸氢钠注射液细菌内毒素检查法研究. 海峡药学, 1999, 11(2): 27.
- [27] 赵晓萌, 杨成骄. 鲎试剂用于细菌内毒素检测碳酸氢钠注射液的研究. 中国药理学杂志, 1999, 34(2): 116.
- [28] 柳涌, 常珍. 复方醋酸钠注射液细菌内毒素的检测研究. 中国医院药理学杂志, 1998, 18(10): 453.
- [29] 杨琳, 顾先华. 鲎试剂用于复方醋酸钠注射液的细菌内毒素检测. 药物分析杂志, 1999, 19: 9.
- [30] 潘龙珍. 氯化钾注射液细菌内毒素的检测. 药物分析杂志, 1999, 19: 28.
- [31] 郭录平. 氯化钾注射液细菌内毒素的检测. 药物分析杂志, 1996, 16(4): 262.
- [32] 霍启录, 石兴华, 黄爱君. 鲎试验法检测氯化钾注射液细菌内毒素的评价. 第一军医大学学报, 1992, 12(2): 132.
- [33] 周喜慧, 张永涛. 糖盐钾注射液细菌内毒素检查法的探讨. 辽宁药物与临床, 1999, 21(1): 34.
- [34] 罗琳, 刘芳艳, 黄永可. 细菌内毒素检查泛影葡胺注射液的热原. 中国医院药理学杂志, 1999, 19(6): 380.
- [35] 肖大立, 宋汪春. 氢苯甲酸注射液细菌内毒素检测方法的研究. 药物分析杂志, 1999, 19: 46.
- [36] 韩晋, 张嘉麟. 磷甲酸钠注射液细菌内毒素检查法的建立. 中国药理学杂志, 1997, 32(12): 743.
- [37] 张宏, 王统康. 硫酸镁注射液细菌内毒素的检查. 黑龙江医药, 1999, 12(2): 106.
- [38] 吴小斌, 伍俊明. 异舒吉注射液细菌内毒素检测方法的研究. 广州医药, 1995, 26(5): 47.
- [39] 刘彤, 石盛发. 氢化可的松注射液的细菌内毒素检查方法研究. 药物分析杂志, 1999, 19: 37.
- [40] 吴振华, 范育斌. 细菌内毒素检查法检查 1% 盐酸普鲁卡因注射液的干扰实验考察. 海峡药学, 1998, 10(4): 19.
- [41] 刘莉, 张丽宏, 韩五成. 尼可刹米注射液细菌内毒素检测方法的研究. 药物分析杂志, 1999, 19: 39.
- [42] 肖文化, 周素文, 程樱. 利巴韦林注射液对细菌内毒素检查的干扰作用及实验方法的探讨. 药物分析杂志, 1999, 19: 24.
- [43] 游伯翔. 利巴韦林注射液细菌内毒素的检查研究. 广东药学院学报, 2001, 17(3): 200.
- [44] 吴晓斌, 敖慧君. 氟康唑注射液细菌内毒素检测方法的实验研究. 药物分析杂志, 1999, 19: 47.
- [45] 李杨, 姚治. 鲎试验法检测右旋糖酐 40 葡萄糖注射液细菌内毒素研究. 中国生化药物杂志, 2000, 21(1): 27.
- [46] 陈铭军. 鲎试验法检查乳酸环丙沙星注射液的细菌内毒素限量. 广西中医学院学报, 2000, 17(1): 53.
- [47] 曲道杰, 芮跃伍, 黄清泉, 杨文广, 许全明, 夏振民. 20%、25%、50% 葡萄糖注射液细菌内毒素检测方法的实验研究. 药物分析杂志, 1996, 16(5): 305.