

应用鲎试剂法检测半成品丹参注射液热源的可行性研究

沈燕(中国方圆标志认证委员会浙江审核中心,杭州 310013)

摘要:目的 建立鲎试剂法检测半成品丹参注射液中细胞内毒素的方法,以适应丹参注射液生产过程较快速检验的需要。方法 中国药典 2000 版二部细菌内毒素检测法。结果 鲎试剂法检测半成品丹参注射液细胞内毒素的结果与家兔法一致。结论 鲎试剂可作为检测丹参注射液半成品的办法。

关键词:丹参注射液;细菌内毒素检查;干扰试验

中图分类号:R927.12 文献标识码:A 文章编号:1007-7693(2006)08-0788-02

Study of bacterial endotoxin test for semi-finished salvia miltiorrhiza injection

SHEN Yan(Zhejiang Sub-center of China certification center for quality mark, Hangzhou 310013, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establishment the limuliod reagent inspection method of bacterial endotoxin to test semi-finished product of salvia miltiorrhiza injection. **METHODS** The test based on the method in 2nd book of China pharmacopoeia, 2000. **RESULTS** The result of limuliod reagent inspection method is as same as pyrogen test with healthy mature rabbits. **CONCLUSION** Limuliod reagent method can be used to inspect semi-finished product of salvia miltiorrhiza injection.

KEY WORDS: salvia miltiorrhiza injection; bacterial endotoxin; interference test

药典规定的细菌内毒素的检验法是家兔法,它适合对丹参注射液的成品检查。但因为家兔法所需的检验时间较长,无法在生产过程中作为对半成品质量内控的检验方法。而鲎试剂法检测内毒素需时较短,如果可行,对于中药生产过程中半成品的质量控制颇具意义。笔者根据 2000 版药典的细菌内毒素检查法对丹参注射液的细菌内毒素进行了可行性的探讨。

1 试剂与药品

冻干鲎试剂 0.5mL/支,冻干细菌内毒素作标准品 10Eu/支、超纯水,厦门鲎试剂厂出品;丹参注射液,杭州。

2 方法和结果

2.1 鲎试剂灵敏度测定

2.1.1 预试:取细菌内毒素工作标准品一支,溶解并稀释成 1→8 等比系列稀释液。取同一批鲎试剂若干支,分别按指示量加入配带的鲎试剂溶解用水,溶解为鲎试剂溶解液。取 2mL 安瓶 24 支,分别加入 0.1mL 鲎试剂溶解液,加入内毒素稀释液 0.1mL,每稀释液作 3 管,同时作 3 管阴性对照,轻轻振荡摇均匀,封口,作 37 ± 1℃ 水浴中保温 60 ± 2min。观测结果,确定本批鲎试剂灵敏度范围。

2.1.2 测定:根据预测得到的灵敏度范围,将细菌内毒素工作标准品以 1→2 等比稀释,选择能出现阳性和阴性结果的 4 个连续稀释液,每一稀释液作 4 管,其中最高浓度的 4 管为阳性,最低浓度的 4 管为阴性,同上述操作,记录反应结果,计算标准差(S)。当 S < 0.365 时,测得所用冻干鲎试剂灵敏度为 0.165Eu/mL。

2.2 供试品稀释倍数

上述实验表明,该批鲎试剂灵敏度小于供试品内毒素限

量,按文献^[2]计算,得丹参注射液可稀释 6 倍。

2.3 丹参注射液干扰试验^[1]

取丹参注射液原液 2、4、6 倍稀释液溶解鲎试剂,分别加入 2mL 安瓶中,每支 0.1 mL,加(1Eu/mL)的内毒素 0.1mL,各浓度同时作 3 管,振荡混匀,置恒温水浴中 37 ± 1℃ 恒温 60 ± 2min。经对 2000 年 ~ 2003 年 11 批丹参注射液的测定,表明丹参注射液原液对鲎试剂有干扰作用,当将其稀释 6 倍后,对鲎试剂无干扰。

2.4 丹参注射液(对鲎试剂灵敏度)抑制/增强系数 b 的测试^[1,2]

取丹参注射液的稀释液(稀释液倍数依据干扰实验),按 1→2 稀释内毒素,使成系列溶液。取 0.1mL 加入到含有 0.1 mL 鲎试剂的安瓶中(每种浓度 4 管,同时设 2 管阴性对照),轻轻摇匀,封口,37 ± 1℃ 水浴中保温 60 ± 2min,根据试验计算标准差 S,当 S < 0.365 时,按 $\lambda = \log^{-1} \sum X/n$ 计算 λ_2 ,代入 $b = \lambda_2/\lambda_1$ (λ_1 为以稀释用水稀释内毒素,求得某批鲎试剂的灵敏度, λ_2 为以供注射液稀释内毒素,求得某批鲎试剂的灵敏度),求出抑制/增强系数 b。

实验结果表明,丹参注射液适当倍数(6 倍)稀释液的 b 值在 0.5 ~ 20 之间,对鲎试剂灵敏度不存在抑制/增强作用。

2.5 鲎试剂法与家兔法对照试验

取丹参注射液做干扰实验,根据实验结果,取丹参注射液适当稀释倍数(6 倍)稀释液 0.1mL,加入含有 0.1mL 的安瓶中,振荡混匀,37 ± 1℃ 恒温水浴中保温 60 ± 2min,经对 2000 年 ~ 2003 年 43 批丹参注射液的测定,结果与家兔法一致(见表 1)。

表 1 鲎试剂法与家兔法热源检查结果对照表

Tab 1 Comparative results between limulod reagent method and pyrogen test method

样品批数	鲎试剂法	家兔法
38 批	-	-
5 批	+	+

3 讨论

3.1 丹参注射液由于原材料产地、生产操作等多种原因,影响对鲎试剂干扰作用不一致,但按供试品稀释倍数稀释后,均无干扰。

3.2 本法比家兔法简便快速,成本较低,实验结果与家兔法一致,较适用于丹参注射液生产过程中半成品(灌装前)的内毒素检查,有利于发现问题及早处理。

参考文献

- [1] 许新涛. 鲎法检测茵栀黄注射液热原. 中草药, 1991, 22(6): 286.
- [2] 周海燕. 鲎试验法检测清开灵注射液中的细菌内毒素. 首都医药, 1999, 6(2): 21.

收稿日期: 2006-01-10