

硫酸镁注射液中细菌内毒素的检测

付燕, 王应建 (昆明市妇幼保健院, 昆明 650031)

摘要:目的 建立硫酸镁注射液的细菌内毒素检查法。方法 按中国药典 2000年版二部附录规定进行鲎试剂复核、样品干扰试验和样品测定。结果 含量为 25%的样品经 2倍稀释后,可用标示灵敏度为 $0.25\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的鲎试剂检测其细菌内毒素,实验结果与临床应用情况相符。结论 鲎法检测硫酸镁注射液中的细菌内毒素结果可靠,方法实用可行,可代替兔法检测其热原。

关键词:硫酸镁注射液;鲎试剂;细菌内毒素

中图分类号: R927.12 文献标识码: B 文章编号: 1007-7693(2005)01-0081-03

Detection of bacterial endotoxin in magnesium sulfate injection

FU Yan, WANG Yin-jian (Kunming Maternal and Children Health Hospital, Kunming 650031, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the detection methods of bacterial endotoxin in magnesium sulfate injection. **METHOD** According to the rules of the Chinese Pharmacopoeia, sensitivity test for tachypleus amoebocyte lysate (TAL), inhibition or enhancement test and sample test for magnesium sulfate injection were carried out. **RESULTS** There was no interference with the bacterial endotoxin test after the sample was diluted. **CONCLUSION** The TAL can be used for detection of bacterial endotoxin in magnesium sulfate injection and can replace the pyrogen test of magnesium sulfate injection.

KEY WORDS: magnesium sulfate injection; tachypleus amoebocyte lysate; bacterial endotoxin

硫酸镁注射液为抗惊厥药,除了产科临床用于子痫惊厥的防治外,还用于心率失常、支气管哮喘、脑梗死及子宫松弛等,均为静脉滴注或注射。本实验研究用鲎法检测其细菌内毒素,以代替兔法检测其热原。

1 试剂和器材

鲎试剂: 0.1mL 支,标示灵敏度 $0.25\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$,批号: 020810,厦门鲎试剂厂; 030423,湛江海洋生物制品厂; 030615,湛江安度斯生物有限公司。细菌内毒素检查用水(简称 BET水): 2mL / 支,批号: 020917,厦门鲎试剂厂。细菌内毒素工作标准品: 50EU / 支,批号: 2002-9,中国药品生物制品检定所制备。硫酸镁注射液: 010417,常州制药六厂; 020401,杭州民生药业(集团)有限公司; 030927,天津金耀氨基酸有限公司(该三批样品临床应用无热原反应)。100

级空气净化操作台:北京海东空气净化设备有限公司生产、安装。实验用玻璃器材经 250°C 干烤 1h 去热原备用。

2 方法和结果

2.1 供试品细菌内毒素理论限值及最大有效稀释倍数的确定

注射剂的兔法致热阈值^[1](K)为 $5\text{EU} \cdot \text{kg}^{-1}$,硫酸镁注射液的质量标准^[2]规定,其热原检查的兔法剂量(稀释至 $0.10\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)为 $1\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,故浓度为 $0.25\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的硫酸镁注射液相当的兔法剂量(M)为 $0.4\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,其细菌内毒素理论限值为: $L = K \div M = 5\text{EU} \cdot \text{kg}^{-1} \div 0.4\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1} = 12.5\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$,因此,硫酸镁注射液的最大有效稀释倍数为 $MVD = L \div \lambda = 12.5\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1} \div 0.25\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1} = 50$ 倍。

2.2 鲎试剂灵敏度复核

用 BET水将细菌内毒素工作标准品稀释成 0.5,0.25,0.125,0.063EU• mL⁻¹的系列稀释液,按中国药典 2000年版二部附录 XI E规定方法进行灵敏度复核试验,结果见表 1。

表 1 鲎试剂灵敏度复核结果

Tab 1 The results of sensitivity test for TAL

TAL批号	标示灵敏度 (EU• mL ⁻¹)	复核结果 (EU• mL ⁻¹)	结论
020810	0.25	0.25	符合规定
030421	0.25	0.25	符合规定
030605	0.25	0.23	符合规定

表 2 供试品干扰预试验

Tab 2 The result of inhibition or enhancement test for magnesium sulfate injection

TAL批号	稀释倍数	细菌内毒素浓度 (EU• mL ⁻¹)				阴性对照	供试品 阴性对照	E _s	E _t
		0.5	0.25	0.125	0.063				
020810	BET水	++++	++++	----	----	--	--	0.25	
	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	4	++++	++++	----	----	--	--		0.25
020810	10	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	20	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	50	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030421	BET水	++++	++++	----	----	--	--	0.25	
	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	4	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030421	10	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	20	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	50	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030605	BET水	++++	++++	----	----	--	--	0.25	
	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	4	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030605	10	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	20	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	50	++++	++++	----	----	--	--		0.25

2.4 供试品干扰试验

取三个批号的样品,用 BET水各稀释二倍,用 BET水和上述稀释液将同一支细菌内毒素工作标准品分别稀释成

表 3 供试品干扰试验

Tab 3 The result of inhibition or enhancement test for magnesium sulfate injection

TAL批号	供试品批号	稀释倍数	细菌内毒素浓度 (EU• mL ⁻¹)				阴性对照	供试品 阴性对照	E _s	E _t
			0.5	0.25	0.125	0.063				
020810	BET水		++++	++++	----	----	--	--	0.25	
	010417	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
020810	020401	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	030927	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030421	BET水		++++	++++	----	----	--	--	0.25	
	010417	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030421	020401	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	030927	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030605	BET水		++++	++++	----	----	--	--	0.25	
	010417	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
030605	020401	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25
	030927	2	++++	++++	----	----	--	--		0.25

2.5 样品细菌内毒素测定

取三个批号样品,用 BET水各稀释 2倍,按规定^[2]进行测定,结果见表 4。

2.3 供试品干扰预试验

取 030927批号样品,用 BET水稀释成 2倍、4倍、10倍、20倍、50倍稀释液,再用 BET水和上述稀释液将同一支细菌内毒素工作标准品分别稀释成 0.5,0.25,0.125,0.063EU• mL⁻¹的浓度,用三个厂家生产的鲎试剂,按药典方法^[2]进行样品干扰预试验,结果表明:样品经 2倍稀释后,不干扰鲎试剂的凝聚反应,结果见表 2。

表 4 硫酸镁注射液细菌内毒素测定结果

Tab 4 The result of bacterial endotoxin test for magnesium sulfate injection

样品批号	TAL批号	供试品管	供试品阳性对照	阴性对照	阳性对照
01 041 7	020810	- -	+	-	+
	030421	- -	+	-	+
	030605	- -	+	-	+
020401	020810	- -	+	-	+
	030421	- -	+	-	+
	030605	- -	+	-	+
030927	020810	- -	+	-	+
	030421	- -	+	-	+
	030605	- -	+	-	+

3 讨论

3.1 本实验将样品进行系列稀释后采用三个厂家的鲎试剂对供试品进行干扰预试验,找出对每批鲎试剂的不干扰浓度

后再进行样品干扰试验,使实验结果更可靠、更准确。

3.2 从表 2 结果可见:供试品经稀释 2 倍后用灵敏度为 $0.25\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的鲎试剂检测其细菌内毒素无干扰作用。检测结果与临床应用情况相符。此法简便、快速、准确、实用可行。

参考文献

- [1] 夏振民.药品细菌内毒素检测限值[J].药物分析杂志,1995,15(3):54.
- [2] 中国药典 2000年版二部[S].2000:901;附录 X IX F;附录 XI E.
- [3] 郑永初,白文廷.硫酸镁治疗支气管哮喘[J].实用内科杂志,1983,3(2):72.
- [4] 马利国.硫酸镁作为子宫松弛剂的应用[J].国外医学·妇产科学分册,1991,18(3):135.

收稿日期:2003-05-23