

· 医院药学 ·

高浓度葡萄糖注射液细菌内毒素的测定

张卫星 张岩 高燕

(济南军区总医院制剂科, 济南 250031)

摘要 50%的葡萄糖溶液可抑制鲎试剂凝集反应, 干扰细菌内毒素的测定, 本文使用中空纤维透析器, 以双向超滤技术, 将细菌内毒素与葡萄糖分离, 降低了葡萄糖浓度, 消除了葡萄糖对鲎试剂凝集反应的抑制作用, 方法实用, 操作简便, 快速灵敏。

关键词 50%葡萄糖注射液 细菌内毒素 鲎试验 双向超滤

高浓度葡萄糖注射液(25~50%)为医院灭菌制剂室经常制备的输液之一, 本品法定用兔法检查热原, 成本高, 重复性差, 耗时长, 很难被基层检验和临床单位接受。鲎法是目前检测内毒素常用的方法, 《细菌内毒素检查法》规定可用于10%和5%葡萄糖注射液热原检查^[1]。为使高浓度葡萄糖注射液也能用鲎法检测内毒素, 我们采用双向超滤方法, 使葡萄糖浓度降低至10%以下, 符合部颁标准要求, 然后再作内毒素检测, 方法简便, 实用性强, 适用于基层检验和临床单位使用。

1 材料与仪器

1.1 材料 鲎试剂(灵敏度为0.5 EU/ml, 厦门鲎试剂厂, 已按部颁标准核对, 灵敏度与标示量相符); 冻干精制大肠杆菌内毒素(批号880101, 卫生部上海生物制品研究所); 细菌内毒素标准品(中国药品生物制品检定所制, 批号863); 中空纤维透析器(gambro GF-120-H)。

1.2 仪器 NXC-I型细菌内毒素测定仪(解放军155医院研制)

2 方法与结果

2.1 双向超滤 蒸馏水管接透析器外侧进液端, 关闭出液端, 调整进液端蒸馏水进液压力, 使超滤液从透析器内侧一端流出, 弃去前100 ml初滤液, 取续滤液作鲎试验阴性对照液, 关闭蒸馏水管, 透析器内侧一端接葡萄糖注射液, 塞紧另一端, 使超滤液从外侧出液端流出。待超滤完后, 打开蒸馏水管

将透析室外侧冲洗3 min, 关闭出液端, 进行反向超滤, 反向超滤液按原管道流回注射液瓶, 至原注射液体积后, 摇匀, 按卫生部颁布的《细菌内毒素检查法》检查。

2.2 细菌内毒素定量检测法 以倍比稀释方法进行, 观察出现阳性反应的最大稀释倍数。按下式计算内毒素含量: 内毒素(EU) = 鲎试剂灵敏度(EU/ml) × 样品体积(ml) × 稀释倍数。

2.3 葡萄糖浓度对鲎试验的干扰 取50%葡萄糖注射液, 经超滤除热原后, 加入细菌内毒素标准品, 用加入同量内毒素的超纯水稀释至不同葡萄糖浓度, 观察对鲎试验凝集反应的抑制作用, 3次试验结果见表1。

表1 葡萄糖鲎试验的抑制试验

内毒素浓度 (EU/ml)	葡萄糖含量(%)					
	50	25	10	5	2.5	0
10	-	+	+	+	+	+
1	-	+	+	+	+	+
0	-	-	-	-	-	-

由表1可见50%的葡萄糖溶液可抑制 ≥ 1 EU/ml的内毒素与鲎试剂的凝集反应。

2.4 双向超滤内毒素吸附试验 取超纯水200 ml加内毒素1000 EU, 按双向超滤法处理, 分次收集反向超滤液, 进行内毒素定量测定, 3次试验结果见表2。

表2 大肠杆菌内毒素双向超滤吸附试验

反向超滤液	反向超滤液稀释倍数							内毒素测定量 (EU)
	× 1	× 2	× 4	× 8	× 16	× 20	× 25	
第 1 个 100ml	+	+	+	+	+	+	-	1000
第 2 个 100ml	-	-	-	-	-	-	-	<50

表2结果表明,反向超滤100 ml已完全回收所加的内毒素,双向超滤对内毒素吸附作用较小。

2.5 内毒素加样回收试验 取经本法测定为阴性

的同批号50%葡萄糖注射液100 ml,分别加入100、200、400、800 EU的内毒素,按双向超滤法处理后,测定内毒素含量,结果见表3。

表3 细菌内毒素加样回收试验

内毒素加入量 (EU)	100ml 反向超滤液倍比稀释测定结果							内毒素测得量 (EU)
	× 1	× 2	× 4	× 8	× 16	× 32		
100	+	+	-	-	-	-	100	
200	+	+	+	-	-	-	200	
400	+	+	+	+	-	-	400	
800	+	+	+	+	+	-	800	

表3结果表明用本法测定50%葡萄糖注射液中热原,加样回收率为100%。

2.6 样品检测结果 用本法检查了12个批号的本院自制50%葡萄糖注射液,结果均为阴性,免法对照检查均为阴性,临床使用过程中未发生一例热原反应。

3 讨论

3.1 双向超滤使用的透析器由8000~15000根空心毛细管形透析膜构成,膜孔径平均0.3 nm,故只允许分子量约15000以下的小分子和部分中分子物质通过,而分子量大于35000的大分子物质如热原不能通过^[2,3]。因此利用膜分离技术可将内毒素与干扰试验的小分子物质分离。该透析器体积小,重量轻,超滤率高,不消耗动力,并能长期使用,透析器用后可用醋酸洗必泰溶液灌注消毒,置冰箱内保存备重复使用。

3.2 本法回收试验及吸附试验结果均表明透析膜对内毒素吸附作用较小,可能是反冲作用的结果,反向超滤可使因正向超滤而吸附在膜微孔上的内毒素颗粒在反冲力的作用下被冲洗下来。注射液与透

析器连接管道可使用一次性输液器,其内壁光滑,对内毒素吸附作用小^[4]。

3.3 目前解决检品对鲎试剂抑制作用的方法,多采用稀释方法。稀释法可克服抑制作用,但同时也降低了检品中内毒素浓度,使检测限量增大。应用本法可克服稀释方法的缺点,适用于大型输液及特殊途径给药剂中内毒素的检测。

本法作为高浓度葡萄糖注射液中的热原检查初试方法是可行的,并为本品制备过程中控制产品质量,提供了一项新的检测方法。

参 考 文 献

- 1 中国卫生部标准. WS₁-288(Y-47)-88
- 2 于宗周. 现代血液净化疗法. 武汉:湖北科学技术出版社, 1986. 1.
- 3 沈阳药学院主编. 药剂学. 北京:人民卫生出版社, 1986. 114.
- 4 袁惠德等. 鲎试剂检测一次性使用输液器内毒素的实验研究. 药物分析杂志, 1990, 10(5):307

收稿日期: 1991-04-01

Detection of Endotoxin in High Concentration Dextrose Injection

Zhang Weixing, Zhang Yan, Gao Yan

(General Hospital, Jinan Military Region, Jinan, Shandong 250031)

Abstract 50% dextrose may inhibit the agglutination reaction of the Tachyleus amebocyte lysate reagent and interfere with the detection of endotoxin. In this experiment, we utilized a two-way ultrafiltration technique with hollow fiber dialyzer and succeeded in separating the endotoxin from the dextrose, hence reducing the concentration of dextrose and eliminating the inhibition of dextrose on the agglutination reaction of the Tachyleus amebocyte lysate reagent. This technique is practical and effective, easy to operate.

Key words 50% dextrose injection Tachyleus amebocyte lysate test Endotoxin Two-way ultrafiltration
(Original article on page 21)